

A NORMÁL ALKÁNOK ÉS A MELATONIN KONFORMÁCIÓS ANALÍZISE

Ph.D. Tézis
Csontos József, MSc

Témavezetők: Dr. Kálmán Miklós, Dr. Tasi Gyula

Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány
Biotechnológiai Intézet
Szeged

2004

T a r t a l o m :

1.	Rövidítések	4
2.	Tudományos közlemények jegyzéke	5
3.	Összefoglalás	6
3.1.	Alkánok	6
3.2.	Melatonin.....	6
4.	Bevezetés	8
4.1.	Sztereokémiai bevezetés	9
4.2.	Az alkánok konformációs analízise.....	12
4.2.1.	Elméleti előzmények.....	12
4.3.	A melatonin konformációs analízise	14
4.3.1.	Biológiai háttér	14
4.3.2.	Elméleti előzmények.....	17
5.	Célkitűzés	21
5.1.	Alkánok	21
5.2.	Melatonin.....	21
6.	Módszerek	22
6.1.	A számításokhoz használt szoftverek	22
6.2.	Az alkánok konformációs analízise.....	22
6.3.	A melatonin konformációs analízise	23
7.	Eredmények és értékelésük	24
7.1.	Az alkánok konformációs analízise ab initio kvantumkémiai módszerekkel.....	24
7.1.1.	A konformerek meghatározása	24
7.1.2.	A konformerek összeszámlálása	33
7.2.	A melatonin konformációs analízise ab initio kvantumkémiai módszerekkel.	40
7.2.1.	A konformerek osztályozása és az eredmények értelmezése	40
7.2.2.	A szakirodalommal történő összevetés	42
7.2.2.1.	Explicit modellek	42
7.2.2.2.	Implicit modellek.....	44

7.2.3.	Ekvivalencia relációk a konformációs potenciális energiafelületen	46
7.3.	A vizsgálatok korlátai	51
8.	Következtetések	52
8.1.	Alkánok	52
8.2.	Melatonin.....	53
9.	Köszönetnyilvánítás.....	54
10.	Hivatkozások	55
11.	Summary	66
11.1.	Unbranched Alkanes.....	66
11.2.	Melatonin.....	67

1. Rövidítések

1D, 2D, 3D	- 1-, 2-, 3-dimenzió
HF	- Hartree-Fock eljárás
LCAO	- Az atomi pályák lineáris kombinációja (Linear Combination of Atomic Orbitals)
MO	- Molekulapályák (Molecular Orbitals)
PES	- Potenciális energiafelület (Potential Energy Surface)
CPES	- Konformációs potenciális energiafelület (Conformational Potential Energy Surface)
QSAR	- Kvantitatív szerkezet-aktivitás összefüggések (Quantitative Structure Activity Relationships)
MEP	- Molekuláris elektrosztatikus potenciál (Molecular Electrostatic Potential)
TM	- Transzmembrán régió (Trans Membrane Domain)
CoMFA	- (Comparative Molecular Field Analysis)
AM1	- (Austin Model 1)
CNDO	- Complete Neglect of Differential Overlaps
GPCR	- G-fehérje kapcsolt receptorok (G Protein Coupled Receptors)
MM2	- MM2 molekulamechanikai erőter
MM3	- MM3 molekulamechanikai erőter
DFT	- Sűrűségfunkcionál elmélet (Density Functional Theory)
SEOEM	- Scaled Effective One-Electron Method
SEHMO	- Scaled Extended Hückel Molecular Orbital
MP2	- Second-order Moeller-Plesset elektronkorrelációs eljárás

2. Tudományos közlemények jegyzéke

A tézisben feldolgozott publikációk:

- I. Tasi G, Mizukami F, Pálinkó I, **Csontos J**, Györffy W, Nair P, Maeda K, Toba M, Niwa S, Kiyozumi Y and Kiricsi I. Enumeration of the conformers of unbranched aliphatic alkanes. *Journal of Physical Chemistry A* **1998**, 102, 7698-7703. [IF: 2,630]
- II. Tasi G, Mizukami F, **Csontos J**, Györffy W and Pálinkó I. Quantum algebraic-combinatoric study of the conformational properties of n-alkanes. II. *Journal of Mathematical Chemistry* **2000**, 27, 9-17. [IF:0,752]
- III. **Csontos J**, Tasi G and Kálmán M. Conformational analysis of the hormone of darkness. *European Journal of Biochemistry* **2002**, 269, 94. Supplement I. [IF: 2,849]
- IV. **Csontos J**, Kálmán M and Tasi G. Conformational analysis of melatonin at Hartree–Fock ab initio level. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2003**, 640, 69-77. [IF: 0,919]
- V. **Csontos J**, Kálmán M and Tasi G. The stereochemistry of the chemical expression of darkness. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **2003**, 666-667, 515-520. [IF: 0,919]

A tézis tárgyához közvetlenül nem kapcsolódó publikációk:

- VI. Hajós G, Tasi G, **Csontos J**, Györffy W, Riedl Z, Timári G and Messmer A. MEP maps as useful tools for prediction of selectivity of alkylations of fused N-heteroaromatics. *Journal of Molecular Structure (Theochem)* **1998**, 455, 191-198. [IF: 0,919]
- VII. Stralis-Pavese N, Sessitsch A, Weilharter A, Reichenauer T, Riesing J, **Csontos J**, Murrell CJ and Bodrossy L. Optimisation of diagnostic microarray for application in analyzing landfill methanotroph communities under different plant covers. *Environmental Microbiology* **2004**, 6, 347-363. [IF: 3,276]

3. Összefoglalás

3.1. Alkánok

Egy effektív egy-elektron kvantumkémiai módszert alkalmaztunk a normál alkán konformerek meghatározására. A butánra, pentánra, hexánra és heptánra kapott eredmények segítségével négy szabályt származtattunk, ezen négy szabály segítségével a létező konformerek szekvenciáit és számát undekánig tudtuk reprodukálni. A szabályok érvényességét Hartree-Fock és másodrendű Moeller-Plesset szinten is megerősítettük. Butánra, pentánra, hexánra, heptánra és oktánra teljes *ab initio* konformációs analízist végeztünk. A szabályok demonstrálják, hogy az *n*-alkánok konformációs tulajdonságait szabályozó legfontosabb hatások az 1-4, 1-5, 1-6 és 1-7 pozícióban lévő szén atomokhoz kapcsolódó hidrogén atomok között fellépő nemkötő - taszító és vonzó - van der Waals kölcsönhatások. A számított gázfázisú képződéshők pontos egyezést mutattak a kísérleti eredményekkel.

A gráfelmélet és a kvantumkémia eszköztárának használatával megoldottuk a normál alkán konformerek összeszámlálási problémáját. Valószínű, hogy a konformerek szekvenciáját meghatározó szabályok valamelyest függenek az alkalmazott kvantumkémiai modelltől, mindazonáltal a gráfelméleti leszámolás minden esetben alkalmazható.

3.2. Melatonin

A melatonin (*N'*-acetyl-3-ethylamid-5-methoxy-indol), a szerotonin mellett a triptofán katabolizmusa során keletkező legfontosabb vegyület, legnagyobb mennyiségben a tobozmirigy szekretálja, annak elsődleges hormonja. A külső fotoperiódikus környezet által szolgáltatott információt továbbítja az endokrin rendszer felé. Terápiás lehetőségeit rövid felezési ideje (40 perc) korlátozza, aminek következtében előtérbe kerültek az agonisták, antagonisták meghatározására irányuló kutatások. Agonisták, antagonisták racionális tervezéséhez azonban elengedhetetlen a melatonin konformációs terének minél pontosabb mérvű ismerete.

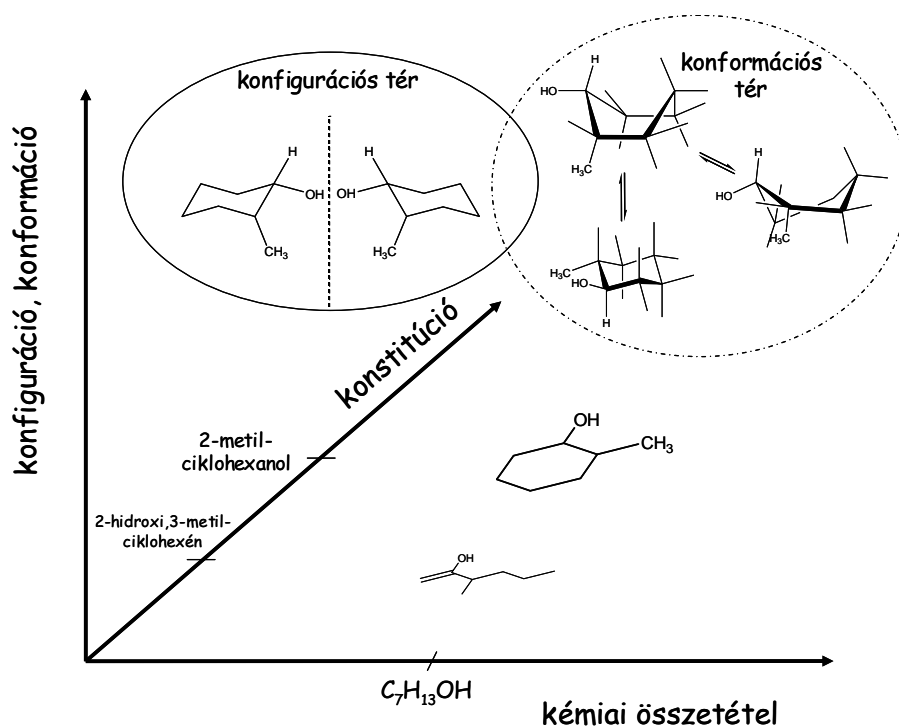
Ab initio szintű konformációs analízis segítségével feltártuk a melatonin konformációs terének sztereokémiai tulajdonságait. Ekvivalencia relációk segítségével osztályokat definiáltunk a

konformerek halmazán. Valószínűsíthető, hogy a melatonin konformációs planáris dokkolási kiralitással rendelkezik receptorai irányában.

Az általunk meghatározott konformációs tér és a nemzetközi szakirodalomban megjelent vizsgálatok összevetésekor találtunk olyan konformereket, amelyek több, egymástól független követelményrendszert is kielégítenek. Ezeket a feltételrendszereket ez idáig függetlennek tekintették.

4. Bevezetés

Egy molekula szerkezet-meghatározása általában a következő szintekre bontható: kémiai összetétel (1D), konstitúció (2D), konfiguráció és konformáció (3D, 4.1. ábra). Megjegyezzük, hogy míg az 1- és 2-dimenziós szerkezet sztatikus, addig a 3D-s konfiguráció és konformáció többnyire dinamikus jellemzői egy adott molekulának. A konformáció dinamikus jellege folytán gyakran előfordul, hogy egy adott konformáció optikailag aktív, ami indokoltá teszi a konformációs kiralitás fogalmának bevezetését. Ebből következően az utóbbi két fogalom inkább mellérendelt, mintsem alá-, vagy fölérendelt viszonyban áll egymással.



4.1. ábra Egy molekulaszervezet meghatározásának lépései. Az összegképlet és a konstitúció megadásával, a 2D-s, vagy ún. szerkezeti izomereket tudjuk elválasztani. A teljesen egyértelmű 3D-s leíráshoz meg kell adnunk, hogy a konfigurációs és konformációs tér melyik eleméről van szó.

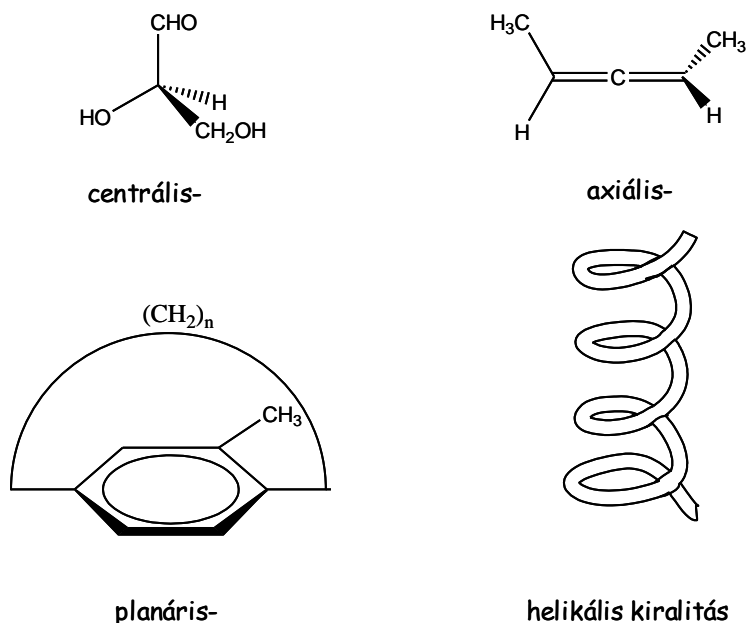
A dinamikus jelleg további következménye, hogy homogén populációval a legritkább esetekben találkozunk. Napjainkban az 1- és 2-dimenziós szerkezet, valamint a konfiguráció felderítése rutinfeladatnak tekinthető. Bizonyos esetekben egy adott konformáció meghatározása

is bevett gyakorlatnak számít: biopolimerek NMR és/vagy röntgendiffrakciós vizsgálata. Azonban egy konformerpopuláció geometriáinak megadása - a jelenleg rendelkezésünkre álló kísérleti eszközökkel - meglehetősen reménytelen feladatnak tűnik. A nehézséget az okozza, hogy egy molekula konformációs terének elemszáma általában lényegesen nagyobb, mint a konfigurációs állapotok száma. Kiralítással bíró molekulák esetén a királis izomerek számának felső korlátja 2^n , ahol n a kiralitást biztosító geometriai elemek száma. Ezzel szemben a konformációs izomerek számának felső korlátja d^n , ahol n a torziós szögek száma, d pedig az egyes torziók mentén előforduló minimumok számának maximuma (általában $d \gg 2$). Egy átlagos fehérje (300-400 monomer) konfigurációjának meghatározása ilyen növekedés esetén is elég reménytelen vállalkozás lenne, ha a természet nem tüntette volna ki az egyik aminosav konfigurációt. Természetesen konformációs esetben is léteznek ilyen kitüntetett konformációk, melyek energiaminimummal rendelkező konformerek, és/vagy úgynevezett aktív konformerek. Ezek megfigyelése és azonosítása azonban lényegesen nehezebb feladat. Makroszkopikus méréseink szinte kivétel nélkül valamely ismert, vagy ismeretlen eloszlású sokaság statisztikai mutatóit adják eredményül. Ellenben a molekuláris szintű folyamatokban individuumok, egyedi molekulák vesznek részt, ezért nem minden esetben célravezető kizárólag a nagy valószínűségű statisztikai állapotokat figyelembe venni. A kvantumkémia használatával lehetőségünk nyílik arra, hogy a molekulákat egyedi objektumokként kezeljük, jobban megértve ezáltal a molekuláris mechanizmusok mozgatórugóit.

4.1. Sztereoekémiai bevezetés

A molekulákat sztatikus szimmetriájuk alapján Schönfliess-féle pontcsoportokba sorolhatjuk. Azon molekulákat, amelyek a C_n , vagy a D_n csoportok valamelyikébe kerülnek a tükrözéses forgástengely (S_n) hiánya jellemzi. Ezen csoportok elemei királisak, azaz nem hozhatók fedésbe tükörképükkel a forgatás és eltolás műveletek véges sokszori alkalmazásával. A kiralitás különböző geometriai elemek létehez köthető, ha ez egy pont, akkor centrális, ha egy egyenes, akkor axiális, ha egy sík, akkor planáris, ha egy csavarmenet, akkor helikális kiralitásról beszélünk (4.1.1. ábra) [Nógrádi1975]. Az axiális, planáris és helikális kiralitás szorosan kapcsolódik a konformáció fogalmához. Egy molekula konformációjának megadásán a torziós

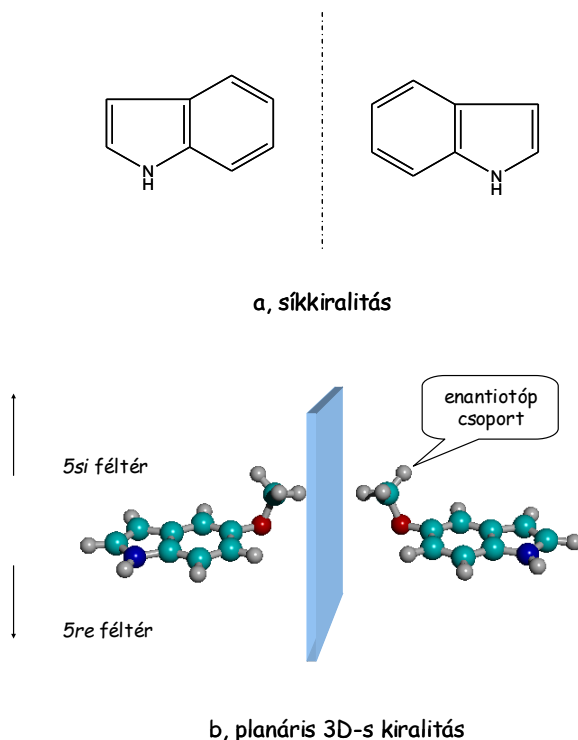
szögei által felvett értékek felsorolását értjük. Konformereknek nevezzük azon konformációkat, amelyek lokális energiaminimummal rendelkeznek a konformációs potenciális energiafelületen. (Ilyen értelemben a kettős kötés mentén fellépő geometriai cisz-, transz izomer párokat is konformereknek tekintjük.) Egy α -helix szerkezetű biopolimer (DNS, fehérje) esetén a láncok helikális kiralitása a másodlagos kölcsönhatások által stabilizált konformációk következménye. Hasonlóan, az axiális kiralitás esetén is valamely kötés mentén fellépő rotációs gátak rögzítik a királis konformációt. Valójában a nem centrálisan királis sztereoizomerek antropizomer konformereknek tekinthetők [Prelog és Helmchen 1982]. Ilyen értelemben beszélhetünk királis konformációról, illetve konformációs kiralitásról.



4.1.1. ábra. A királis molekulák típusai.

A térben értelmezett planáris kiralitás a kétdimenziós kiralitás következménye. Síkban királisnak nevezünk egy alakzatot, ha véges sok a síkjában ható forgatás és eltolás műveletekkel nem hozható fedésbe tükörképével (4.1.2. ábra, a). Természetesen kilépve a síkból a térbe, forgatással már fedésbe hozható a két síkidom. A síkbeli kiralitás térbeli megnyilvánulása, hogy a síkidomnak két megkülönböztethető oldala van, így a sík, amely tartalmaz egy ilyen tulajdonságú síkidomot, a teret két megkülönböztethető féltérre osztja. Mislow és Raban után az ezekben a féltérekben található atomokat, atomcsoportokat heterotóp atomoknak, atomcsoportoknak

nevezzük [Mislow és Raban 1967]. Ha egy ilyen heterotóp atom, vagy atomcsoport kapcsolódik a sík kiralitással bíró molekulához, akkor háromdimenziós planáris kiralitással rendelkező molekulát kapunk (4.1.2. ábra, b), ebben az esetben a heterotóp csoportot enantiotópnak szokás nevezni.



4.1.2. ábra. A két- és háromdimenziós kiralitás kapcsolata

Meg kell említeni, hogy a konformációs kiralitás tisztán matematikai definícióját szokás kiegészíteni olyan kémiai feltételekkel, amelyek a vizsgált enantiomer-párok élettartamára, elválaszthatóságára, illetve energetikai tényezőkre vonatkoznak. Megjegyezzük, hogy ezen mellékfeltételek nehézkessé teszik a jelenség egyértelmű matematikai kezelését, mivel a hőmérséklet csökkentésével és a kísérleti módszerek időbeli felbontásának finomodásával a rezolválhatóságra és élettartamra vonatkozó határok kitolhatók, illetve alacsony hőmérsékleten a kis energiagátak is leküzdhetetlenül nagyoknak tűnnek; kémiai szempontból mégis segítséget jelent, ha adott körülmények között stabilitási elvárásokat tudunk tenni egy molekula királis konformációira. Az ezzel kapcsolatos nehézségek elkerülése végett vezették be az utóbbi időben a dinamikus kiralitás fogalmát [Kawabata és *mtsai*. 2000a; Kawabata és *mtsai*. 2000b]. Egy másik lehetőség a probléma áthidalására, hogy a kiralitást nem a megszokott bináris rendszerben

(igen/nem, R/S), hanem folytonos skálán mérjük [Keinan és Avnir 1998; Zabrodsky és Avnir 1995; Zabrodsky és *mtsai*. 1992].

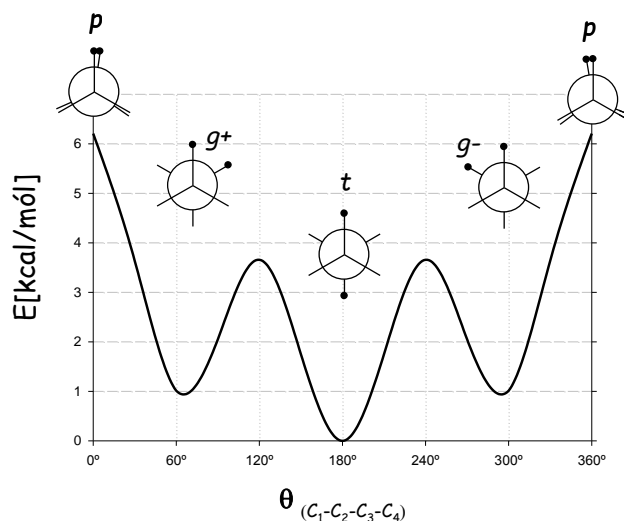
4.2. Az alkánok konformációs analízise

4.2.1. Elméleti előzmények

A biológiailag aktív molekulák konformációs tulajdonságainak elméleti tanulmányozása egy fontos kutatási terület. Az összes lehetséges konformer ismerete alapvető, mivel egyáltalán nem biztos, hogy a biológiailag aktív konformer megfeleltethető a molekuláris, potenciális energiafelület globális minimumának. A nagy konformációs flexibilitással rendelkező molekulák legegyszerűbb osztályát a normál alkánok alkotják. Számos, a témában folytatott tanulmány ellenére még nem tisztázott, hogy a homológ sorok egyedi tagjainak hány konformere létezik [Frey és *mtsai*. 1993; Gang és *mtsai*. 1996; Goodman 1997b; Lahtela és *mtsai*. 1997; Smith G.D. és Jaffe 1996]. Tsuzuki és *mtsai* szerint a lehetséges konformerek száma valószínűleg nagyobb, mint 3^n , ahol n a rotábilis szén-szén kötések száma [Tsuzuki és *mtsai*. 1991]. Ez idáig a következő eljárásokat használták nagy molekulák konformációs tulajdonságainak elméleti tanulmányozására: molekuláris dinamika, molekulamechanika és szemiempirikus kvantumkémia. A molekuláris mechanikai és dinamikai módszerek gyorsan szolgáltatnak eredményt, azonban ezek általában kevésbé megbízhatóak, mint a hagyományos kvantumkémiai módszerekkel kapottak. Néhány példa arra is rávilágít, hogy a széles körben használt szemiempirikus kvantumkémiai módszerek nem mindig szolgáltatnak kielégítő eredményeket. Az utóbbi időben kimutatták, hogy az MNDO és AM1 módszerek túlbecsülik az *all-trans* konformerek stabilitását n -alkánok esetén [Dewar és Thiel 1977; Dewar és *mtsai*. 1985]. Újabb eredmények szerint célszerű az új szemiempirikus módszerek paraméterezéséhez nagy molekulákat is figyelembe venni, mivel a nagy gyűrűs rendszerek képződéshőjére vonatkozó AM1 és PM3 számítások nyilvánvalóan nem kielégítőek [Stewart 1989]. Ami a kísérletes megközelítést illeti, a következő technikákat érdemes megemlíteni: mikrohullámú- és infravörös spektroszkópia, valamint elektrondiffrakció.

A XIX. század végén van't Hoff és Le Bell a tetraéderes szénatom fogalmának bevezetésével a kémia egy új ágának, a sztereokémiának fejlődését indította útjára. A sztereokémia egyik alapvető

feladata, hogy számot adjon a molekulák szerkezeti, konfigurációs és konformációs izomereiről. A tudományág megszületése óta a szerkezeti izomerek összeszámlálásával foglalkozó tanulmányokban az alifás alkánok a leggyakoribb célpontok. 1930-ban Pólya kidolgozott egy általános kombinatorikus elméletet, amelyet később módosított, illetve mások továbbfejlesztettek. Az n -alkán molekulák flexibilis szénláncát szemlélve magától értetődő módon vetődik fel a kérdés: mennyi a lehetséges konformerek száma és milyen ezek felépítése? További fontos kérdések: (1) mi a konformerek relatív stabilitási sorrendje, (2) hogyan transzformálódnak egymásba? Ezen kérdések megválaszolása után az n -alkánok makroszkopikus fizikai és kémiai tulajdonságai a statisztikus mechanika segítségével meghatározhatók a konformerek együtteséből. Az n -alkánok konformációs összeszámlálási feladata nem oldható meg csupán absztrakt matematikai módszerekkel, sőt a jelenlegi kísérleti technikák sem tudnak döntení ebben a kérdésben. Jelenleg a legjobb megoldásnak az tűnik, ha összekapcsoljuk az elméleti kémiai alkalmazásokat az absztrakt matematikai eszközökkel. A hagyományos kvantumkémiai eljárás szerint egy adott molekula különböző konformerei a konformációs potenciális energiafelület lokális minimumához kapcsolódnak, amelyet a nem relativisztikus, időfüggetlen Schrödinger-egyenlet közelítő megoldásából származtatunk a Born-Oppenheimer közelítésen belül. Ami a konformációs PES nyeregpontjait illeti, legfontosabbak az elsőrendű nyeregpontok (átmeneti állapotok), melyek a konformereket kapcsolják össze. Ennélfogva a konformációs PES topológiája meghatározza egy molekula konformációs tulajdonságait. A 4.2.1.1 ábrán az n -bután jól ismert konformációs energiadiagramját láthatjuk.



4.2.1.1. ábra. A normál bután konformációs viszonyai.
gauche-típusú konformációk ($g^+ \sim +60^\circ$, $g^- \sim -60^\circ$), antiperiplanáris ($t \sim 180^\circ$), szinperiplanáris ($p \sim 0^\circ$)

Az *n*-bután konformációs viszonyait szokás kiterjeszteni a magasabb homológok CPES-ének leírására is. Az indukciós következtetéshez azt is hozzáveszik, hogy az „all-trans” konformer globális minimum a potenciális energiafelületen.

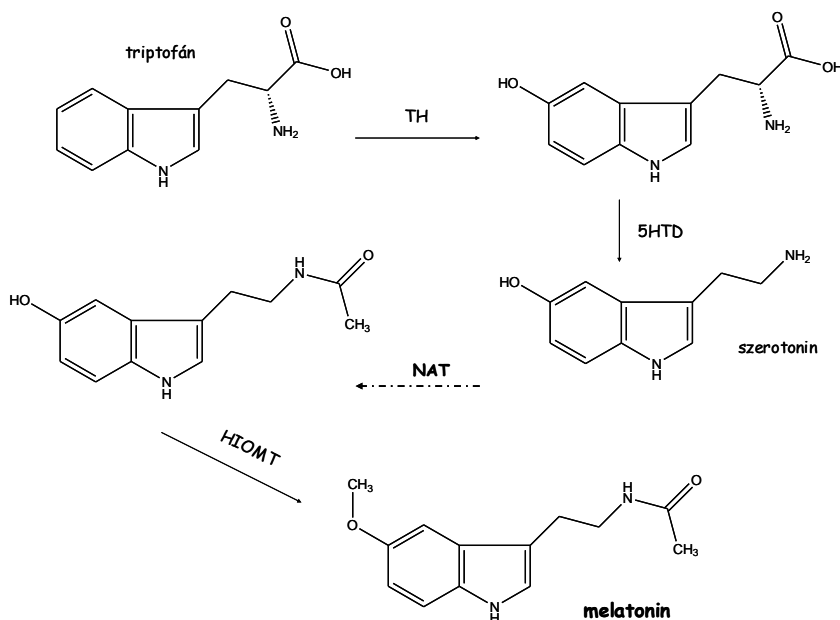
A kombinatorikus összeszámlálási tanulmányokban általában feltételezték, hogy a lehetséges *n*-alkán izomerek beágyazhatók a gyémánt kristályrácsába. Másképp fogalmazva, csak olyan konformerek létezésével számoltak, melyekben előforduló torziós szögek megtalálhatók a gyémántrácsban.

4.3. A melatonin konformációs analízise

4.3.1. Biológiai háttér

A melatonint az 1950-es években izolálták a tobozmirigyből, majd hamarosan meghatározták konstitúcióját [Lerner és *mtsai.* 1959; Lerner és *mtsai.* 1958]. Maga a vegyület a triptofán katabolizmusa során a szerotoninből keletkezik egy kétlépéses enzimkatalizált biokémiai reakcióban (4.3.1.1 ábra). A szekréció elsődleges helye a tobozmirigy, amely az agytörzs és a nagyagy között helyezkedik el [Reiter 1991]. A tobozmirigy a fényintenzitás megváltozására érzékenyen reagál - amikor a retinát fény éri, akkor a látóidegen keresztül érkező inger hatására leállítja a melatonin szintézisét. Ennek következtében az endokrin melatonin-szint nappal alacsony, éjjel magas [Utiger 1992]. A melatoninnal kapcsolatos kutatások meglehetősen szerteágazóak (Alzheimer-kór, oxidatív stressz, öregedés [Hagan és Oakley 1995; Pappola és *mtsai.* 1998; Pierpaoli és Maestroni 1987; Reiter 1999; Turjanski és *mtsai.* 1998]), azonban a legintenzívebben kutatott területek a napi, azaz cirkadián ritmushoz köthető jelenségek (alvás-, ébrenlét zavarok, álmatlanság, „jet-lag”, „shift-work”) [Depreux és *mtsai.* 1994; Mor és *mtsai.* 1998; Mor és *mtsai.* 1999; Spadoni és *mtsai.* 1997; Spadoni és *mtsai.* 2001; Tarzia és *mtsai.* 2000; Yous és *mtsai.* 1992]. Mindamellett, hogy a melatonin befolyással van a cirkadián ritmusra, úgy tűnik, hogy a hosszabb periódusú ritmusok szabályozásában is fontos szerepet tölt be (szezonális - téli depresszió, annuális - szaporodás) [Pevet 2003]. Csecsemőkben három hónapos

korban kezdődik a melatonin szekréciója, majd a pubertáskor elmúltával fokozatosan csökken a kiválasztott melatonin mennyisége.



4.3.1.1. ábra. A triptofán katabolizmusa

triptofán-hidroxiláz (TH), 5-hidroxi-triptofán-dekarboxiláz (5HTD), N-acetil-transzferáz (NAT), hidroxi-O-metil-transzferáz (HIOMT); a NAT aktivitása nappal alacsony, éjjel magas.

A melatonin kronobiológiai hatásait G-fehérje kapcsolt receptorokon (GPCR) keresztül fejt ki [Baldwin 1993; Strader és *mtsai.* 1995; Wess 1997]. Emlőszőben és emberben két nagy affinitású receptort klónoztak ez idáig: MT_1 (korábban MEL_{1A} , ML_{1A} , Mel_{1a}) és MT_2 (korábban MEL_{1B} , ML_{1B} , Mel_{1b}). Az MT_1 receptor mRNS-ét a suprachiasmatikus nucleusban (SCN, a biológiai óra szabályozásában központi szerepet tölt be), az MT_2 receptort, pedig a retinában detektálták [Dubocovich és *mtsai.* 1996; Ebisawa és *mtsai.* 1994; Reppert és *mtsai.* 1995]. Ezenkívül létezik egy további, kis affinitású MT_3 (korábban ML_2) típusú melatonin receptor is, melynek szerepe kevésbé tisztázott [Barrett és *mtsai.* 1997; Conway és *mtsai.* 1997; Conway és *mtsai.* 2000a; Conway és *mtsai.* 2000b; Dubocovich 1988a; Dubocovich 1988b; Dubocovich 1995; Mazzucchelli és *mtsai.* 1996; Reppert és *mtsai.* 1996]. (Újabb kutatások szerint az emberi kinon reduktáz enzim hörcsögben található homológja az MT_3 receptor. [Nosjean és *mtsai.* 2000]). A cirkadián ritmushoz köthető rendellenességek eredményesen kezelhetők orális melatonin bevitellel, azonban rövid felezési ideje (20-30 perc) és a szelektivitás hiánya - az egyes receptorok felé - megnehezíti a klinikai alkalmazást [Mor és *mtsai.* 1999].

Az eddig megszintetizált és farmakológiai kísérletekben megvizsgált melatonin analógok száma több százra tehető. Ezek közül, azonban nagyon kevés az optikailag tiszta vegyületekkel elvégzett kísérletek száma, ráadásul a legtöbb esetben a kötődési és biológiai aktivitás vizsgálatok nem egy adott receptoron, hanem receptorok elegyén történtek [Davies és mtsai. 1998; Faust és mtsai. 2000; Fukatsu és mtsai. 2002; Jansen és mtsai. 1996; Jellimann és mtsai. 1999; Jellimann és mtsai. 2000; Kloubert és mtsai. 1998; Mor és mtsai. 2001; Sugden és mtsai. 1995b; Uchikawa és mtsai. 2002; Yous és mtsai. 2003]. Az analógokkal elvégzett kísérletek, illetve elméleti vizsgálatok is valószínűsítik - mind az MT₁, mind az MT₂ kötőhelyek esetén - a „folded” konformációjú aktív melatonin konformert [Garratt és mtsai. 1995; Garratt és mtsai. 1996; Marot és mtsai. 1998; Sastre és mtsai. 2001; Sicsic és mtsai. 1997; Spadoni és mtsai. 1997]. Ebben a konformációban a 3'-amid- és az 5'-metoxi-csoport térközben van. Továbbá az is kiderült, hogy az indolgyűrű nitrogénje sem a kötődés, sem a biológiai válasz kialakításában nem játszik számottevő szerepet [Depreux és mtsai. 1994; Fourmaintraux és mtsai. 1998]. A legegyszerűbb szerkezettel bíró melatonin analógok vizsgálata arra is fényt derített, hogy a pirrolgyűrű anélkül elhagyható, hogy jelentős affinitás csökkenést tapasztalnánk. Ellenben a benzolgyűrű fontos szerepet tölt be az oldalláncok megfelelő helyzetben történő rögzítésében [Garratt és mtsai. 1996; Mor és mtsai. 1999].

Az MT₁ és MT₂ típusú receptorok úgynevezett nagy affinitású, az MT₃ pedig kis affinitású receptor (MT₁ és MT₂-re K_d=10-300pM, MT₃-ra K_d=1-10nM). A 3'-oldallánchoz tervezett optikailag aktív melatonin analógokkal végzett kísérletek azt mutatják, hogy az *S* enantiomerek az MT₁ és MT₂ receptort, míg az *R* enantiomerek az MT₃ receptor kötőhelyét részesítik előnyben [Fukatsu és mtsai. 2002]. Uchikawa és mtsai leírták, hogy az MT₁ kötőhelye a triciklusos anguláris indán analógokkal, míg az MT₃ receptor a lineáris analógokkal aktiválható könnyebben [Uchikawa és mtsai. 2002]. Az MT₁ és MT₂ altípusok szintén különböznek az aktív hely geometriájában, továbbá azt is kimutatták, hogy az *R* izomerek erősebben kötődnek az MT₂ receptorhoz, mint az MT₁-hez (4.3.1.1. táblázat) [Faust és mtsai. 2000; Yous és mtsai. 2003].

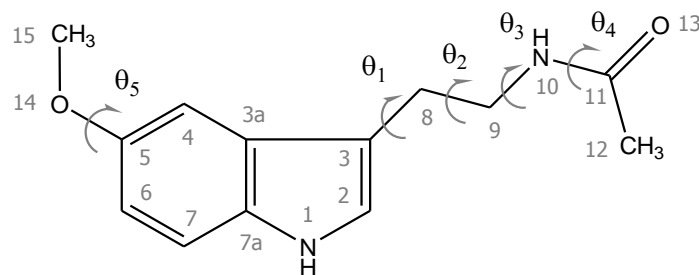
4.3.1.1. táblázat Az egyes receptorokon kifejtett enantiomer affinitások összehasonlítása

enantiomerek

enantiomerek			
affinitás		R	S
	>> (pM)	MT ₂	MT ₁
	> (nM)	MT ₃	

4.3.2. Elméleti előzmények

A biológiai háttér ismeretében érthető, hogy a melatonin térszerkezeti vizsgálata nem sokat váratott magára, majd a 2-[¹²⁵I]-jód-melatonin radioaktív analóg bevezetésével lehetővé vált a kötőhelyek azonosítása is [Dubocovich és mtsai. 1989; Dubocovich és Takahashi 1987; Mazzucchelli és mtsai. 1996; Wakahara és mtsai. 1972]. A receptorok aminosav sorrendjének meghatározása és az első rögzített szerkezetű analógok megszintetizálása után megnyílt a lehetőség a receptor modellek és a konformerek elméleti vizsgálata előtt. Ezen a ponton meg kell emlékeznünk a népszerűség egy hátrányáról. Dacára annak, hogy a molekulamodellezéssel kapcsolatos publikálásnak, illetve az eredmények bemutatásának bevett szokásai és ajánlásai vannak, a melatonin esetében a különböző szakterületekről érkező kutatók ezt nem minden esetben vették figyelembe. Ennek következtében már az is egyfajta kihívásként fogható fel, hogy a szakirodalomban ez idáig a melatonin konformációkkal kapcsolatban publikált eredményeket egységes köntösbe bujtassuk, ezért szokatlan módon – az áttekinthető tárgyalásmód érdekében – kénytelenek vagyunk előre utalni eredményeinkre és még az irodalmi háttér taglalása előtt egy egységes jelölésmódot bevezetni. Jelölje p a $[-40^\circ; +40^\circ]$, g^+ a $[+50^\circ; +70^\circ]$, g^- a $[-70^\circ; -50^\circ]$, x^+ a $(+70^\circ; +115^\circ]$, x^- a $[-115^\circ; -70^\circ)$, t pedig a $[-160^\circ; -180^\circ) \cup [+160^\circ; +180^\circ]$ intervallumba eső torziós szögeket. A torziós szögek és az atomok számozását a 4.3.2.1. ábrán láthatjuk. Ezek után például $x^+ t x^+ p x^-$ jelöli azt a konformert, amelynek torziós szögeire rendre a következő egyenlőtlenségek teljesülnek: $+70^\circ < \theta_1$, $\theta_3 \leq +115^\circ$, $+160^\circ \leq \theta_2 \leq +200^\circ$, $+40^\circ \leq \theta_4 < +40^\circ$ és $-115^\circ \leq \theta_5 < -70^\circ$.



4.3.2.1. ábra. A melatonin torziós szögei és az atomok számozása

Az utóbbi időben számos elméleti kémiai módszert alkalmaztak a melatonin aktív konformerének meghatározására: különböző szintű konformációs analízisek, dokkolási számítások, farmakofór keresések, QSAR. A következőkben összefoglaljuk a konformerekkel kapcsolatos publikációkat. Wakahara és mtsai 1972-ben publikáltak egy krisztallográfiai vizsgálatokon nyugvó melatonin konformációt, jelölésünket használva $t t t _ p$ (A továbbiakban aláhúzással jelöljük azt a torziós szöget, melyet nem definiáltak, vagy nem vizsgáltak az adott publikációban.).

Lewis és mtsai az $x^+ t x^+ t t$ konformációt, mint globális minimumot használták fel MEP térkép készítésére CNDO/2 atomi töltésekből [Lewis és mtsai. 1990].

Először Jansen és mtsai végeztek részleges konformációs analízist MM2-85 és MM2 erőkerek használatával a melatonin 3'-oldalláncára. A θ_4 , és θ_5 torziót rendre t és p konformációban rögzítették. A θ_1 , θ_2 és θ_3 torziók által kifeszített konformációs altérben 18 konformert találtak - 9 tükörképi párt. A nem izomorf konformerek a következők voltak: $x^+ g^- -136^\circ t p$, $x^+ g^- x^+ t p$, $x^+ g^+ +139^\circ t p$, $t g^+ +138^\circ t p$, $t g^+ -138^\circ t p$, $g^+ g^+ x^- t p$, $x^+ t x^+ t p$, $x^+ t x^- t p$, $t t x^+ t p$ [Jansen és mtsai. 1993].

1994-ben Ebisawa és munkatársai megklónozták a *Xenopus laevis* melanofór sejtjeiben található melatonin receptort. Az első receptor kötőhely modelleket, illetve a ligand aktív konformációját ezen ismeretek birtokában fejlesztették ki [Ebisawa és mtsai. 1994].

Sugden és munkatársai a bakteriorodopszin transzmembrán doménjeit használták mintaként a melatonin receptor homológia modellezésére és egy olyan kötőhely modellt javasoltak - QSAR, CNDO/2 számításokkal - amely 3 receptor-ligand kölcsönhatást tételez fel: a Trp256 (TM6) és az indolgyűrű π - π kölcsönhatását, valamint két hidrogénhidat, az egyiket az amid-oldallánc és az Asn 167 (TM4) a másikat pedig a metoxi-oldallánc és a Ser115 (TM3) között. Ebben a modellben a

melatonin $t t t t t$ sík konformációban volt dokkolható [Sugden és *mtsai*. 1995a].

Szemiempirikus kvantumkémiai számítások és az 5-metoxi-6-klór-indol molekulára vonatkozó kísérleti eredmények tükrében Jansen és *mtsai* arra a következtetésre jutottak, hogy a metoxi konformáció p [Jansen és *mtsai*. 1996]. Ezt követően előző vizsgálataikhoz hasonlóan elvégezték számos rotációsán gátolt analóg konformációs analízisét is. A bakteriorodopszin 3D-s szerkezetének ismeretében készítettek minireceptor modellt. Három hidrogénkötést tételeztek fel, kettőt a III-as doménben levő két szerin (Ser115, Ser119) és az amin-oldallánc nitrogénje, valamint az acetyl-csoport oxigénje között, egy további hidrogénhidat pedig a metoxi oxigénje és az TM5 hélixben található His200 között. Vizsgálataik alapján két lehetséges aktív konformert definiáltak: Modell A: $g^+ g^- x_- p$ és Modell B: $g^+ t x_- p$. A B modellt javasolták további dokkolási vizsgálatokra [Grol és Jansen 1996].

Sugden-hez hasonlóan Navajas és *mtsai* AM1 módszerrel és QSAR-CoMFA analízis segítségével a rodopszinnal – mint GPCR receptorral – való homológia alapján szintén egy sík konformációt javasoltak, azonban az 5-metoxi-csoport és a θ_4 torzióját p -nek találták: $t t t p p$. Maga a modell öt kölcsönhatást tesz lehetővé: egy-egy hidrogénhidat a metoxi-csoport és a His10 (TM5), az acetyl oxigén és a Ser6 (TM7) között, aromás kölcsönhatást az indolgyűrű és a Phe9 (TM6), valamint további két hidrofób kölcsönhatást a metoxi metil-csoportja és a Val7 (TM5), továbbá az acetyl metil-csoportja és az Ala10 (TM7) között [Navajas és *mtsai*. 1996]. Ha figyelembe vesszük, hogy a bakteriorodopszin nem tagja a GPCR családnak, illetve, hogy a homológia a rodopszin és a melatonin receptorok között meglehetősen gyenge 6-10%, akkor az aktív konformerre vonatkozó információkat meglehetősen elővigyázatossággal kell kezelnünk.

Sicsic és *mtsai* 57 különböző szerkezeti családba tartozó melatonin analógra végeztek 3D-QSAR-CoMFA számításokat [Sicsic és *mtsai*. 1997]. Az eredményeik alapján a melatonin "folded" konformációját javasolták, amely eltekintve a metoxi csoport helyzetétől (t) hasonló a Jansen modellhez.

Marot és *mtsai* hasonló eljárással (3D-QSAR-CoMFA) 142 darab 16 különböző szerkezeti osztályba tartozó melatonin analógra végeztek számításokat [Marot és *mtsai*. 1998].

Spadoni és *mtsai* az etilamid-oldallánc konformációs szerkezetét vizsgálták [Spadoni és *mtsai*. 1997]. A metoxi-csoport helyzetét és a θ_4 torziót t -konformációban rögzítették. Két modellt javasoltak, melyekben az amid-lánc közel merőleges az indolgyűrű síkjára. Öt melatonin

konformer tartozott ebbe a két osztályba: A: $x^+ t x^+ t t$, B: $x^+ t t t t$, $p t x^- t t$, $p t t t t$, $t t x^+ t t$.

Vasilescu és Broch szemiempirikus és ab initio módszerekkel konformációs analízist végezve négy különböző konformert talált - a III-as és IV-es számút szimmetriai megfontolásokkal generálták az első kettőből: I: $x^+ g^- 127^\circ t t$, III: $x^+ g^- -121^\circ t t$, II: $x^- g^+ -130^\circ t t$, IV: $x^- g^+ +112^\circ t t$ [Vasilescu és Broch 1999].

Sastre és munkatársai feltételezték, hogy két hidrogénhíd felelős a biológiai aktivitásért, valamint, hogy ezek egymáshoz viszonyított helyzete sem közömbös [Sastre és *mtsai*. 2001]. 16 különböző vegyületet vizsgáltak, hogy elméleti számításokkal (MM3 konformációs analízis, HF/3-21G* geometriai optimalizálás és DFT atomi töltések) megállapítsák a két feltételezett kötőhely - a metoxi oxigénje és az amid-oldallánc nitrogénje, valamint hidrogénje - közötti optimális távolságot.

Florio és *mtsai* OPLS-AA molekulamechanikai erőter használatával egy kiterjedt konformációs analízist végeztek [Florio és *mtsai*. 2002]. 204 lokális minimumot találtak a CPES-en, melyeket négy csoportba soroltak: transz/anti (_ _ _ t p), transz/szin (_ _ _ t t), cisz/anti (_ _ _ p p) és cisz/szin (_ _ _ p t).

5. Célkritizés

A nemzetközi szakirodalom ide vonatkozó eredményei alapján úgy véltük, hogy a következő vizsgálatok megvalósíthatók és érdeklődésre számot tarthatnak:

5.1. Alkánok

Célunk volt, hogy a normál alkánok konformációs potenciális energiafelületét magas szintű *ab initio*- és egy a rendelkezésünkre álló (kis szénatomszámú alkán konformerekre paraméterezett) szemempirikus kvantumkémiai módszerekkel tanulmányozzuk, továbbá a lehetséges konformerek számát meghatározzuk.

5.2. Melatonin

Mivel a melatonin aktív konformerének térszerkezete nem ismert, és egymásnak ellentmondó adatok jelentek meg a szakirodalomban a globális minimumot képviselő konformer geometriájával kapcsolatban, továbbá kiterjedt és magas szintű vizsgálatot még nem végeztek a konformációs potenciális energiafelületen, ezért célul tűztük ki egy magas szintű, minden - a potenciális energiafelületet befolyásoló - torziós szögre kiterjedő kvantumkémiai vizsgálatot.

6. Módszerek

A probléma méretéből, illetve a rendelkezésünkre álló erőforrásokból következően a következő általánosan elfogadott kvantumkémiái közelítések felhasználásával vizsgáltuk a konformációs teret: az időtől független Schrödinger-egyenletet oldottuk meg a Born-Oppenheimer és az LCAO-MO közelítésen belül a Hartree-Fock módszer alkalmazásával.

6.1. A számításokhoz használt szoftverek

Az *ab initio* számításokat a Gaussian 94, valamint a Gaussian 98 programcsomagokkal végeztük [Frisch és *mtsai*. 1995; Frisch és *mtsai*. 1998]. A kiindulási geometriák elkészítéséhez és az eredmények kiértékeléséhez használt programokat magunk írtuk.

6.2. Az alkánok konformációs analízise

A SEOEM szemimpiikus módszert használtuk undekánig [Tasi és Mizukami 1998; Tasi és *mtsai*. 1997]. A bután, pentán, hexán, heptán és az oktán molekulákra HF/6-31G* és MP2/6-311G** számításokat is végeztünk. Az *ab initio* számításokat CRAY C90 és IBM SP2 számítógépeken végeztük Gaussian 94 programcsomaggal. A kiindulási geometriák elkészítése és az eredmények kiértékelése személyi számítógépeken történt a PcMol csomag segítségével. A SEOEM számításokat CRAY C90, IBM SP2 és személyi számítógépeken végeztük a SEHMO programmal. A különböző konformerek összeszámlálásához egy FORTRAN programot írtunk, a program MOPAC [Stewart 1990], Gaussian 94, MM2 és SEHMO input fájlokat képes generálni az *n*-alkánok konformációs analíziséhez. A geometriák készítésénél lehetőséget ad az általunk megadott torziók rögzítésére is. Az alkánok nem izomorf konformereit szerkezeti hasonlósági vizsgálatok segítségével határoztuk meg.

6.3. A melatonin konformációs analízise

Annak érdekében, hogy megfelelően jellemezzük a melatonin konformációs terét 5 torziós szöget választottunk (4.3.2.1. ábra). A torziós szögekkel, mint független valószínűségi változókkal 1500 geometriát generáltunk. Azért, hogy meghatározzuk a konformációs potenciális energiafelületen található konformereket, a kiindulási geometriákat szimmetria megszorítások nélkül optimalizáltuk Hartree-Fock szinten STO-3G bázis alkalmazásával. Ezt követően a kapott egyensúlyi konformergeometriákon 6-31G* bázis segítségével további optimalizálást hajtottunk végre. Minden esetben ellenőriztük a potenciálfelületen talált stacionárius pontokat, számítottuk a Hesse-mátrix sajátértékeit. Azokat a geometriákat tartottuk meg, melyekhez tartozó Hesse-mátrix pozitív definit volt, azaz a stacionárius pont valódi minimumhely volt. Végül az eredmények ismeretében szimmetria megfontolások alapján további konformációkat is megvizsgáltunk; ezen geometriák elkészítéséhez, az eredmények kiértékeléséhez, valamint az ekvivalencia osztályok meghatározásához Kylix és FORTRAN programokat írtunk.

7. Eredmények és értékelésük

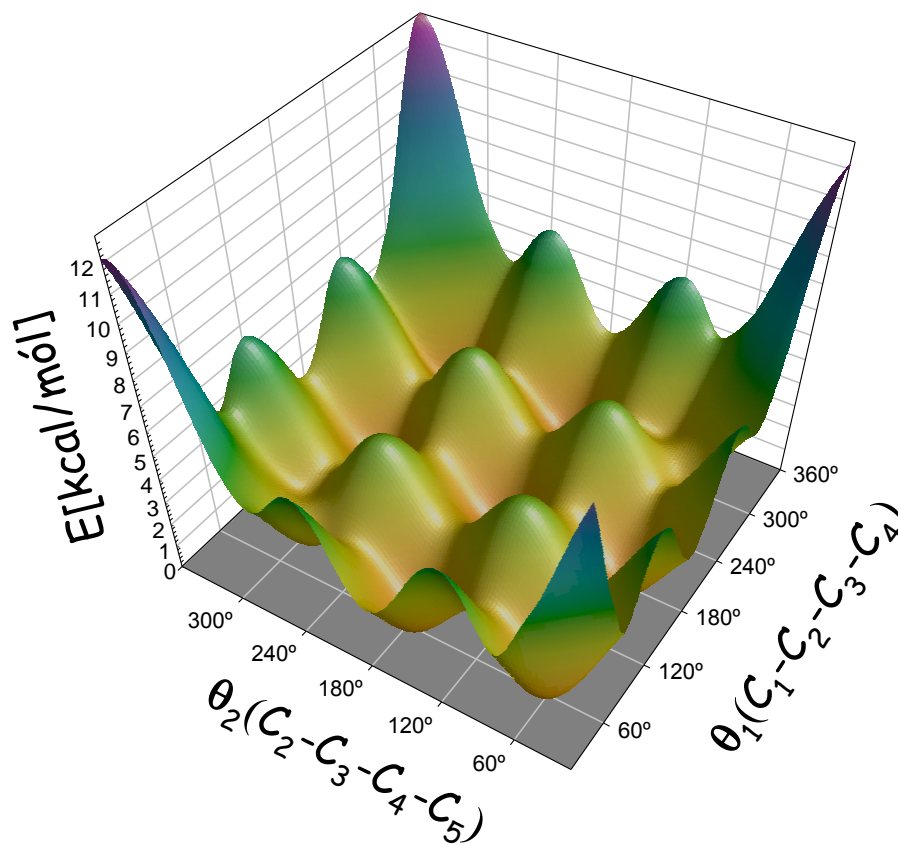
7.1. Az alkánok konformációs analízise *ab initio* kvantumkémiai módszerekkel

7.1.1. A konformerek meghatározása

Ha kizárólag a bután esetén megismert 1-4 kölcsönhatások játszanának szerepet a konformációk kialakításában, akkor a $\varphi: K \rightarrow L^n$ ($L=\{t, g^+, g^-\}$, K a konformerek halmaza, n a molekulában lévő, szabadon rotálható C-C-C-C torziós szögek száma) leképezés bijektív lenne és a konformerek számára 3^n -t kapnánk. A kölcsönösen egyértelmű leképezésnek, az 1-4 kölcsönhatásokon túli effektusok kizárásán kívül, van egy további feltétele: az L halmaz számossága nem függhet n -től. Ennek a két feltételnek a teljesülését alaposan meg kell vizsgálni.

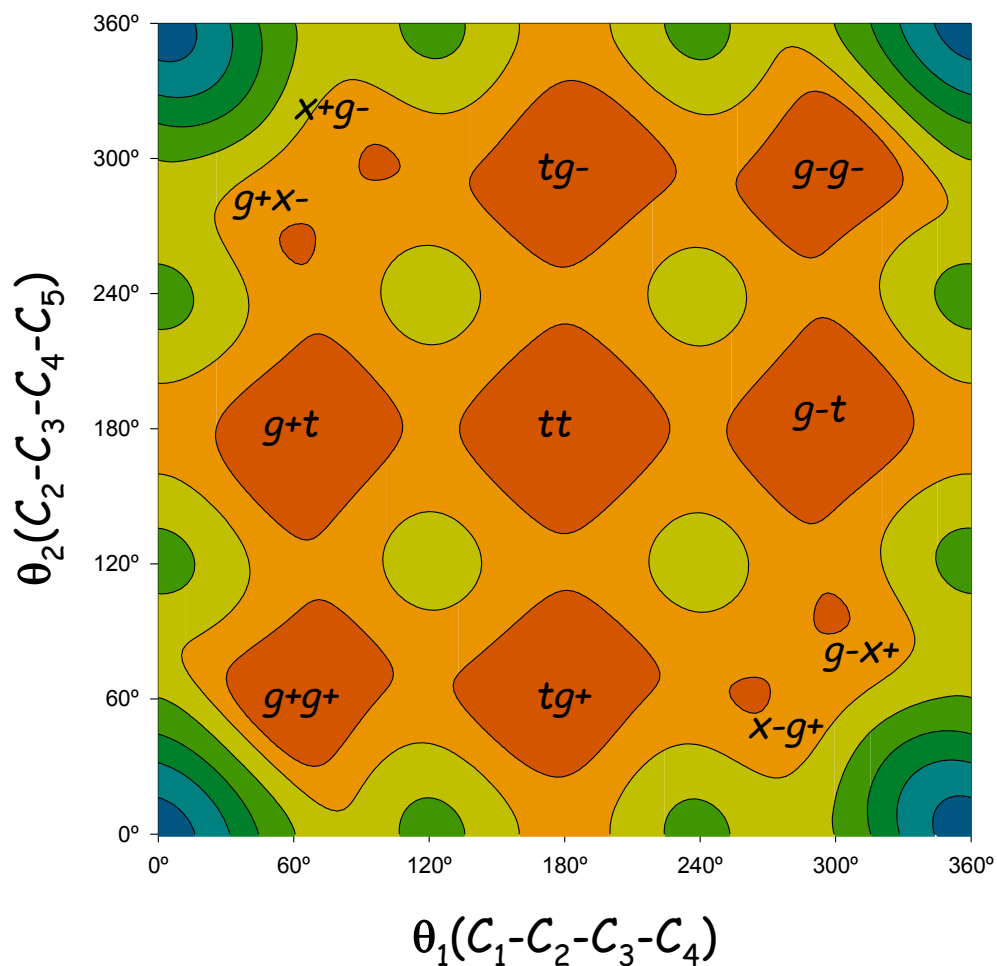
Bután, pentán, hexán és heptán molekulák esetén teljes *ab initio* konformációs analízist végeztünk Hartree-Fock (HF/6-31G*) és másodrendű Moeller-Plesset (MP2/6-311G**) szinten. Oktán esetén a Hartree-Fock volt a legmagasabb szint, amelyen számításokat végeztünk. Tasi és Mizukami egy effektív, egy-elektron módszert (SEOEM) paraméterezett G2 számítások alapján [Curtiss és mtsai. 1997; Tasi és Mizukami 1998].

Először a SEOEM modellt alkalmaztuk a pentán, hexán és heptán molekulák konformációs terének meghatározására. A kiindulási geometriákat Monte Carlo módszerrel generáltuk: a szabad C-C-C-C torziós szögeket véletlenszerűen választottuk a $[0-2\pi)$ intervallumból. A kiindulási geometriák számát lépésenként növeltük 10 és 3000 között addig, amíg a kapott lokális minimumok száma tovább már nem növekedett. Minden stacionárius pontra harmonikus rezgési analízist végeztünk. Egy bizonyos kiindulási geometriaszám elérése után a kezdeti geometriák számának további növelésével már csak az átmeneti állapotok száma növekedett. A SEOEM modellel pentán, hexán és heptán molekulákra rendre 11, 35 és 107 konformer adódott.



7.1.1.1. ábra. A pentán konformációs potenciális energiafelülete.
(Az energiákat a globális minimum energiájához viszonyítjuk.)

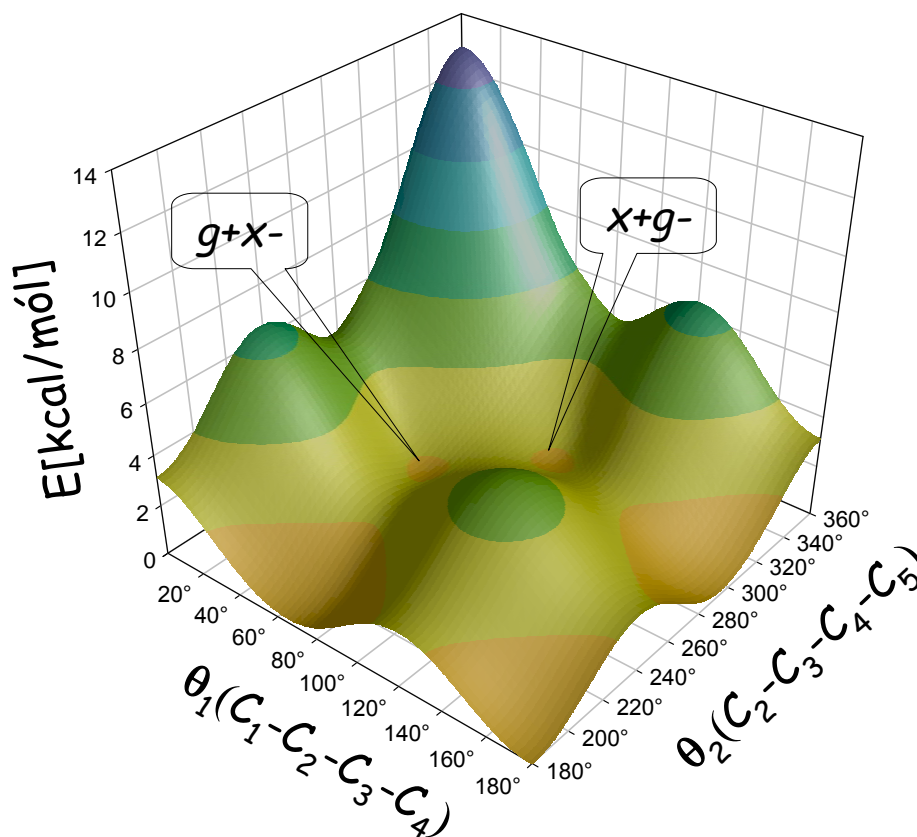
A 7.1.1.1. ábra a pentán molekula SEOEM konformációs potenciális energiafelületét mutatja. Már a háromdimenziós ábrán is megfigyelhetők, azonban egy alacsonyabb felbontású szinttérkép bemutatásával még inkább „kidomborodnak” a lokális minimumok és az őket összekötő átmeneti állapotok (7.1.1.2. ábra).



7.1.1.2. ábra. A pentán konformációs szinttérképe.

(A szintvonalak 2 kcal/mól -ként vannak feltüntetve, a legalacsonyabb a piros, a legmagasabb a kék.)

11 lokális minimum, 20 átmeneti állapot és 4 lokális maximum látható. Az is megfigyelhető, hogy kétféle *gauche* torziós szög létezik: egy $\pm 60^\circ$ -nál és egy másik $\pm 95^\circ$ -nál (7.1.1.3. ábra). Jelöljük a különböző torziós szögeket a következőképpen: $t \sim 180^\circ$, $g^+ \sim +60^\circ$, $g^- \sim -60^\circ$, $x^+ \sim +95^\circ$ és $x^- \sim -95^\circ$.



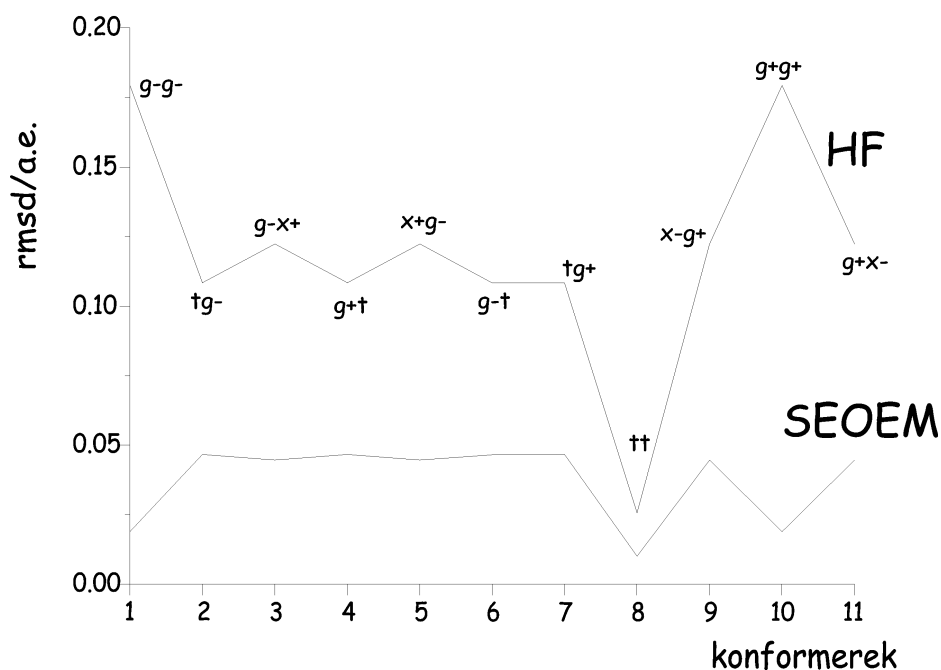
7.1.1.3. ábra. A pentán konformációs potenciális energiafelülete a $g+x^-$ és az $x+g^-$ konformerek környezetében.

Csak a nem izomorf, vagy más néven spektroszkópiai izomer pentán konformernek totális energiája különböző. Az izomorf konformerek energiáira a következő összefüggések állnak fenn: $tg^+ = tg^- = g^+t = g^-t$, $g^+g^+ = g^-g^-$ és $x^-g^+ = x^+g^- = g^+x^- = g^-x^+$. Azaz a pentán konformációs terét a tt konformációval együtt négy ekvivalencia osztályba lehet sorolni. Azon konformerek ekvivalensek, melyek energiája megegyezik. A 7.1.1.2. ábrán a minimumokat kijelölő szintvonalak geometriája alapján könnyen elkülöníthető a négy ekvivalencia osztály. Megjegyezzük, hogy a g^+x^- és az x^-g^+ konformerek közötti átmeneti állapothoz a g^+g^- geometriával rendelkező molekulát szokták általában hozzárendelni. Ez azonban nem helyes, ugyanis az átmeneti állapotban a torziósszögek $+75,6^\circ$ és $-75,6^\circ$ -osak, amelyek lényegesen eltérnek a konformerek torziósszögeitől (g^+x^- : $+60^\circ$, -95° ; x^+g^- : $+95^\circ$, -60°). Az átmeneti állapothoz tartozó geometria a C_s pontcsoportba tartozik. Ugyanez érvényes a g^-x^+ és az x^+g^-

konformerek közötti átmeneti állapotra is.

A SEOEM eredményekből mindenképpen leszűrhető, hogy a konformerek számára a 3^n szabály egy alsó, míg az 5^n szabály egy felső becslést ad, ugyanis az L halmaz számossága megváltozott ($L=\{t, g^+, g^-, x^+, x^-\}$).

A kapott SEOEM molekulageometriákra teljes geometriai optimalizálást hajtottunk végre HF (RHF/6-31G^{*}), és MP2 (MP2/6-311G^{**}) szinteken. Minden SEOEM konformerről bebizonyosodott, hogy ezeken a szinteken is lokális minimum. Megvizsgáltuk a SEOEM és a HF geometriáknak az MP2 geometriáktól való eltérését. A SEOEM geometriák pontosabbnak bizonyultak az RHF/6-31G^{*} geometriáknál (7.1.1.4. ábra)

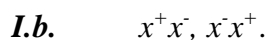
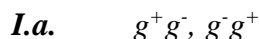


7.1.1.4. ábra. A számított SEOEM és HF/6-31G^{*} geometriák eltérése az MP2 geometriáktól a pentán konformerek esetében.

Ezek után pentánra, hexánra és heptánra generáltuk az 5^n szabály szerinti összes geometriát (rendre 25, 125 és 625). Ezekből a geometriákból kivettük azokat, melyeket a SEOEM modellel megtaláltunk, így a pentán esetében 14, a hexánnál 90, a heptánra pedig 518 geometria teljes optimalizálását hajtottunk végre HF és MP2 szinten. Újabb lokális minimumot, vagyis stabil konformert, nem találtunk a potenciális energiafelületen, csak néhány új nyeregponot, azaz átmeneti állapotot. Ezen eredményekből kiderült, hogy a HF, MP2 és a SEOEM számítások teljes összhangban vannak a heptán molekuláig bezáróan.

A pentánra, hexánra és heptánra elvégzett konformációs analízis eredményei segítségével arra törekedtünk, hogy megkeressük azokat a sajátságokat, amelyek döntő szerepet játszanak a konformerek térszerkezetének kialakításában. A kapott szekvenciák alapján néhány, egyszerű szabályt állíthattunk fel:

I. a következő kéttagú szekvenciák sohasem fordulnak elő stabil konformerekben:



II. a $g^+x^-g^+, g^-x^+g^-, x^+g^+x^-, x^-g^+x^+, x^+g^-x^-$ és $x^-g^-x^+$ sztringek szintén tiltottak.

III. a soha elő nem forduló négyes szekvenciák a következők: $x^+g^-g^-x^+$ és $x^-g^+g^+x^-$.

IV. Adódott egy olyan szabály is, amely egy szükséges feltételt fogalmaz meg: az x^+ torziós szög mellett mindig kell lennie g^- torziós szögnek, azaz $...x^+g^-...$, vagy $...g^-x^+...$; ugyanígy az x^-g^+ -t igényel, vagyis $...x^-g^+...$, vagy $...g^+x^-...$

Ezeknek a szabályoknak az alkalmazásával pontosan reprodukálható az összes létező pentán-, hexán- és heptán konformer szekvenciája.

Felmerül a kérdés, vajon a fent említett szabályokat lehet-e alkalmazni hosszabb n -alkánokra, vagy sem, igazak maradnak-e a kis szénatom számra levezetett következtetések? A 7.1.1.1. táblázatban láthatjuk a C_4 - C_{12} normál alkánokra kapott eredményeket, melyekhez a következő számításokat végeztük: oktánra, nonánra, dekánra és undekánra a kezdeti geometriákat háromféle módon állítottuk elő a SEOEM számításokhoz:

- i. Monte Carlo módszerrel, 10000-200000 közötti kiindulási struktúrát hoztunk létre.
- ii. az 5^n felső határ szerinti összes konformációt előállítottuk.
- iii. az (I-IV) szabályok alkalmazásával építettük fel a kiindulási geometriákat.

A három eljárással ugyanazt az eredményt kaptuk, mind a konformerek számában, mind pedig a szekvenciák tekintetében (ld. a 7.1.1.1. táblázat utolsó oszlopa). Ezek alapján azt mondhatjuk, hogy a felállított (I-IV) szabályok nagy valószínűséggel általános érvényűek hosszabb szénláncú normál alkánok esetében is.

7.1.1.1 táblázat A normál alkánok konformereinek a száma.

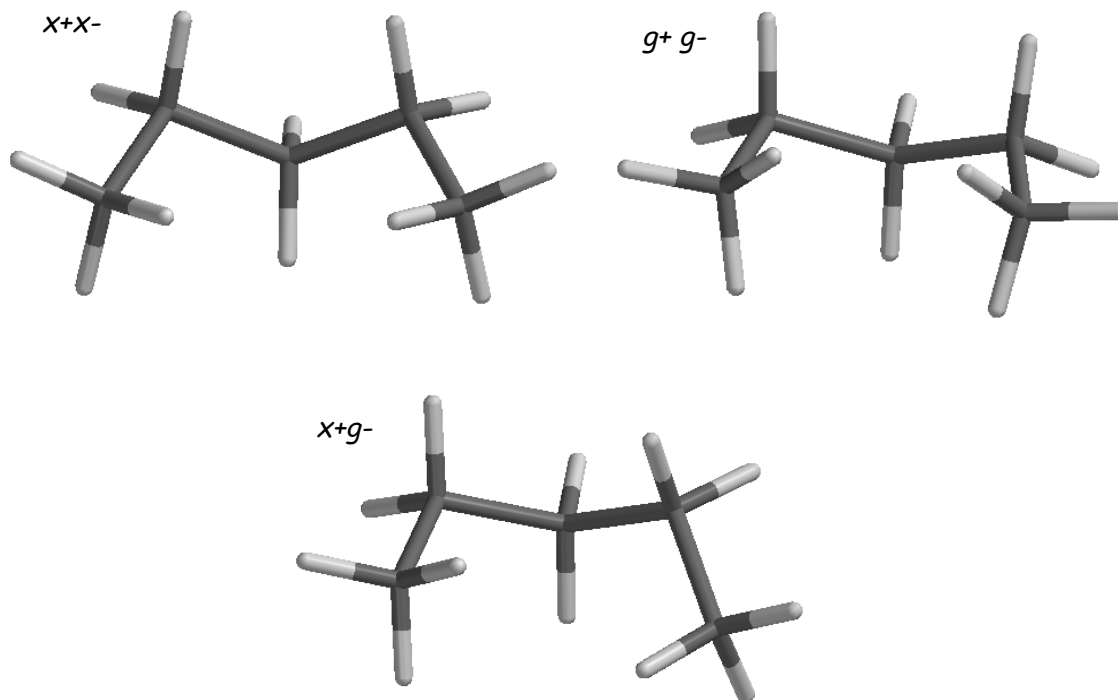
<i>n</i> -alkán	<i>n</i>	3 ^{<i>n</i>}	5 ^{<i>n</i>}	(I)-(IV) szabályok	Talált konformerek
bután	1	3	5	3 (2)	3 (2)
pentán	2	9	25	11 (4)	11 (4)
hexán	3	27	125	35 (12)	35 (12)
heptán	4	81	625	107 (30)	107 (30)
oktán	5	243	3125	339 (95)	339 (95)
nonán	6	729	15625	1073 (279)	1073 (279)
dekán	7	2187	78125	3375 (876)	3375 (876)
undekán	8	6561	390625	10633 (2691)	10633 (2691)
dodekán	9	19683	1953125	33525 (8481)	-

A zárójelben lévő számok a nem izomorf konformerek számát adják meg; *n* a C-C-C-C torziós szögek számát jelöli.

Goto és munkatársai MM2 molekulamechanikai erőter alkalmazásával meghatározták a normál alkánok lehetséges konformereit dekánal bezárólag [Goto és *mtsai*. 1993]. Pentán, hexán, heptán, oktán, nonán és dekán molekulák esetén a meghatározott konformerek száma rendre a következő volt: 11, 35, 109, 347, 1101 és 3263. Ha a III-as szabálytól eltekintünk, akkor 11, 35, 109, 347, 1105 és 3507 adódik a konformerek számára. Oktánig nincs különbség, nonára 4, dekánra pedig 244 a két eljárás differenciája. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy az $x^+g^-g^-x^+$ és $x^-g^+g^+x^-$ sztring részleteket tartalmazó konformációk lokális minimumok az MM2 PES-en. MM2 számításokat végeztünk a feltételezés igazolására. A számítások megerősítették, hogy heptán esetén az $x^+g^-g^-x^+$ és a $x^-g^+g^+x^-$, oktánra pedig a $tx^+g^-g^-x^+$, $tx^-g^+g^+x^-$, $g^+x^+g^-g^-x^+$, $g^-x^-g^+g^+x^-$, $x^+g^-g^-x^+t$, $x^+g^-g^-x^+g^+$, $x^-g^+g^+x^-t$ és $x^-g^+g^+x^-g^-$ szekvenciák lokális minimumok az MM2 PES-en. A magasabb SEOEM, HF és MP2 szinteken ezek nem bizonyultak konformereknek. Azért, hogy teljesen meggyőződjünk szabályaink érvényességéről az oktán molekulára egy teljes *ab initio* konformációs analízist végeztünk HF szinten. Kilencvenöt nem izomorf konformert kaptunk, melyek teljes egyezésben voltak a szabályainkból levezethetőkkel. Összegzésképpen azt mondhatjuk, hogy az I-IV. szabályok érvényesek SEOEM, HF és MP2 szinten, valamint a

lehetséges konformerek száma kevesebb, mint amit az MM2 módszer jósol. Érdekes megjegyeznünk, hogy az I, II és IV szabályok érvényesek MM2 szinten is.

Azért, hogy értelmezni tudjuk az I-IV. szabályokat, tanulmányoztuk a megfelelő szekvenciák geometriáját. A 7.1.1.5. ábrán láthatjuk, a pentántól érvénybe lépő szabályokban szerepet játszó konformációk MP2 geometriáját.



7.1.1.5. ábra. A pentán és magasabb *n*-alkán homológok konformereinek értelmezéséhez szükséges nem izomorf térszerkezetek.
I. és IV. szabály

Az x^+g^- konformerben a C(1) és a C(5) atomokhoz kapcsolódó hidrogénatomok között 225,7 pm a minimális távolság. A tiltott g^+g^- és x^+x^- szekvenciáknál ugyanez a távolság 130,0 pm és 241,2 pm. Az x^+g^- megvalósuló geometriához képest a g^+g^- esetén van der Waals taszítás (1-5 taszítás), míg az x^+x^- esetén van der Waals vonzás (1-5 vonzás) lép fel a terminális metilcsoportok között. Ugyanerre a következtetésre juthatunk akkor is, ha a hidrogén kísérleti van der Waals rádiuszának (118,5 pm) segítségével próbáljuk magyarázni a megfigyeléseket. Hosszabb láncok esetén hasonló 1-5 taszítási és vonzási kölcsönhatások alakulhatnak ki a $-CH_3$ és $-CH_2-$ vagy $-CH_2-$ és $-CH_2-$ csoportok között.

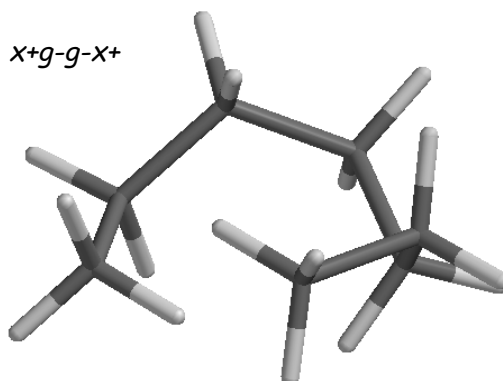
A 7.1.1.6. ábrán a hexán, a 7.1.1.7. ábrán, pedig a heptán és magasabb *n*-alkánok

konformereinek kialakulásában szerepet játszó nem izomorf MP2 térszerkezeteket láthatjuk.



7.1.1.6. ábra. A hexán és magasabb *n*-alkán homológok konformereinek értelmezéséhez szükséges térszerkezetek.
II. szabály

Mindkét esetben van der Waals tasztítás lép fel a terminális metil-csoportok között: 1-6 tasztítás az első esetben, illetve 1,7 tasztítás a második esetben. Hosszabb láncok esetén 1-6 és 1-7 tasztítási kölcsönhatások alakulhatnak ki -CH₃ és -CH₂- vagy -CH₂- és -CH₂- csoportok között.



7.1.1.7. ábra. A heptán és magasabb *n*-alkán homológok konformereinek értelmezéséhez szükséges térszerkezet.
III. szabály

Összegzésképpen elmondhatjuk, hogy az n -alkánok konformereinek számát, és szekvenciáját az 1-4, 1-5, 1-6, és 1-7 helyzetű szénatomokhoz kapcsolódó hidrogénatomok között fellépő, van der Waals, taszító és vonzó kölcsönhatások határozzák meg.

Az lehetséges konformerek ismeretében, kvantumkémiai számítások alapján, felhasználva a megfelelő statisztikus termodinamikai formulákat lehetőségünk nyílik a termodinamikai mennyiségek meghatározására [McQuarrie 1976]. Az x_i konformerek gáz fázisú populációját első közelítésben a következőképpen számíthatjuk:

$$x_i = \frac{e^{-\frac{\Delta E_i}{kT}}}{\sum_j e^{-\frac{\Delta E_j}{kT}}},$$

ahol ΔE_i az i -edik konformer és a globális minimum energiája közötti különbség. A képződéshőket ezek után a következőképpen számíthatjuk:

$$\Delta H_f^{298} = \sum_i x_i \Delta H_{f,i}^{298}.$$

A 7.1.1.2. táblázatban mutatjuk be a SEOEM módszerrel számított és a kísérleti képződéshőket néhány normál alkán molekulára [Cohen 1996]. Láthatjuk, hogy az egyezés az elmélet és a kísérlet között kiváló.

7.1.1.2 táblázat A kísérletes és számított gáz fázisú képződéshők.

n-alkán	Kísérleti érték [kJ/mól]	Számított érték [kJ/mól]
pentán	-146,9	-146,8
hexán	-167,1	-167,0
heptán	-187,7	-187,4
oktán	-208,6	-207,8
nonán	-228,2	-228,2
dekán	-249,5	-248,7
undekán	-270,9	-269,8

7.1.2. A konformerek összeszámlálása

Az előző pontban megmutattuk, hogy a III. szabályban található tiltott négyes szekvenciákat tartalmazó heptán és oktán konformációk Hartree-Fock szinten nem lokális minimumok a konformációs PES-en. Elektronkorrelációs effektusokat (MP2) figyelembe véve hasonló eredményeket kapunk. Mint fentebb említettük az MM2 molekulamechanikai erőter az I., II., és IV. szabályt támogatja [Goto és *mtsai*. 1993]. Ezért mindkét modellben megvizsgáltuk a konformerek összeszámlálásának problémáját. 1. modell: I-IV. szabályok vannak érvényben, 2. modell: I-II. és IV. szabály van érvényben.

Tasi és Mizukami előzőleg megoldották az n -alkánok konformációs összeszámlálási problémájának egy jól definiált, speciális esetét (0. modell) [Tasi és Mizukami 1999]. Termodinamikai nézőpontból az általuk tárgyalt t , g^+ , g^- torziós szögekkel rendelkező normál alkán konformerek a legfontosabbak. Azonban nyilvánvaló, hogy a teljes összeszámlálási feladatnak alapvető jelentősége van. Több független megoldást származtattunk, most a legegyszerűbbet tárgyaljuk.

Mint azt már az előző pontban említettük az L halmaz számossága megváltozott: $L = \{t, g^+, g^-, x^+, x^-\}$. Az n -alkán konformerek szekvenciái úgy tekinthetők, mint L önmagával alkotott Descartes hatványai. Legyen $B = L^n = \{(a_1, a_2, \dots, a_n) \mid a_i \in L, 1 \leq i \leq n\}$, ahol n a C-C-C-C torziós szögek száma, nyilvánvalóan $|B| = 5^n$. Az I-IV szabályok miatt a megvalósuló konformerek számára igaz, hogy $K < |B|$. Az összeszámlálási feladatot esetekre bonthatjuk, ha bevezetjük a következő részhalmazokat: $L_1, L_2 \subseteq L$ és $L_1 = \{t, g^+, g^-\}$, $L_2 = \{t, x^+, x^-\}$. Ekkor $B_1 = L_1^n$, $B_2 = L_2^n$ és $|B_1| = |B_2| = 3^n$.

Legyen B_0 a B_1 és B_2 halmaz metszete. B_0 csak az „all-trans” elemet (t, t, t, \dots, t) tartalmazza. Létrehozva a $B'_1 = B_1 - B_0$, $B'_2 = B_2 - B_0$, $B_3 = B - (B'_1 \cup B'_2)$, $B'_3 = B_3 - B_0$ halmazokat, láthatjuk, hogy páronként diszjunktak és B_0 -al képzett uniójuk B -t adja eredményül. Ezzel az osztályozással az összeszámlálási probléma három esetre bontható:

- i. A B'_2 halmaz számosságának meghatározásától eltekinthetünk, ugyanis az I-IV szabályok miatt nem létezik olyan konformer, amely ebbe a halmazba tartozna.
- ii. A B'_1 elemeinek meghatározásához csak az I.a szabályt kell figyelembe vennünk.
- iii. A nehézségeket a B'_3 halmaz megadása okozza, hiszen minden szabályt figyelembe kell vennünk.

Tasi és Mizukami meghatározta a B_I halmazban található konformerek számát. A következő egyenletet kapták:

$$C_n(B_I) = 3^n - \frac{2}{3} \sum_{i=1}^{n-1} \omega_i 3^{n-i} \quad (1)$$

ahol n a szabad C-C-C-C torziós szögek száma a molekulában, ω_i -k egészek és egy rekurziós formula érvényes rájuk

$$\omega_{i+2} = 2\omega_{i+1} + \omega_i \text{ és } \omega_0 = 0, \omega_1 = 1 \quad (2)$$

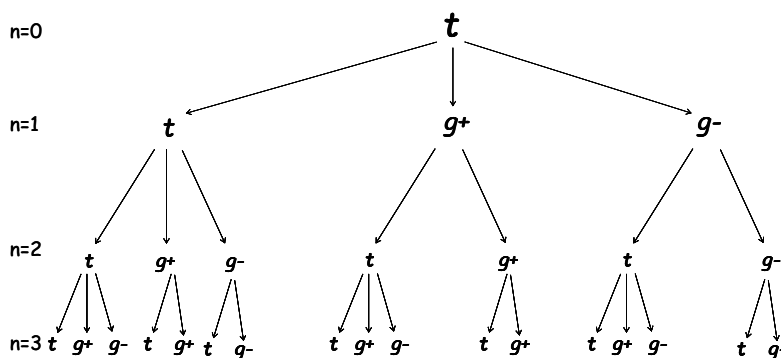
Matematikai indukció alkalmazásával könnyen megkaphatjuk a (3) egyenletet az (1) és a (2) segítségével

$$C_n(B_I) = \omega_{n+2} - \omega_{n+1} = \omega_{n+1} + \omega_n, \quad (3)$$

amely a következő egyszerű rekurziós formulához vezet

$$C_{n+2}(B_I) = 2C_{n+1}(B_I) + C_n(B_I) \text{ és } C_0(B_I) = 0, C_1(B_I) = 3 \quad (4)$$

A (4) egyenlet (0. modell) a gráfelmélet segítségével is származtatható. A t , g^+ és g^- torziókkal rendelkező n -alkánok lehetséges konformereinek szekvenciái leírhatók egy G' irányított gráf segítségével (7.1.2.1. ábra).



7.1.2.1. ábra. A B_I halmaz elemeit leíró G' gráf.

Ha az irányított élek mentén összeolvassuk a csúcspontokat, akkor megkapjuk a konformerek szekvenciáit. Az egyes szintek a szabad C-C-C-C torziós szögek számának felelnek meg.

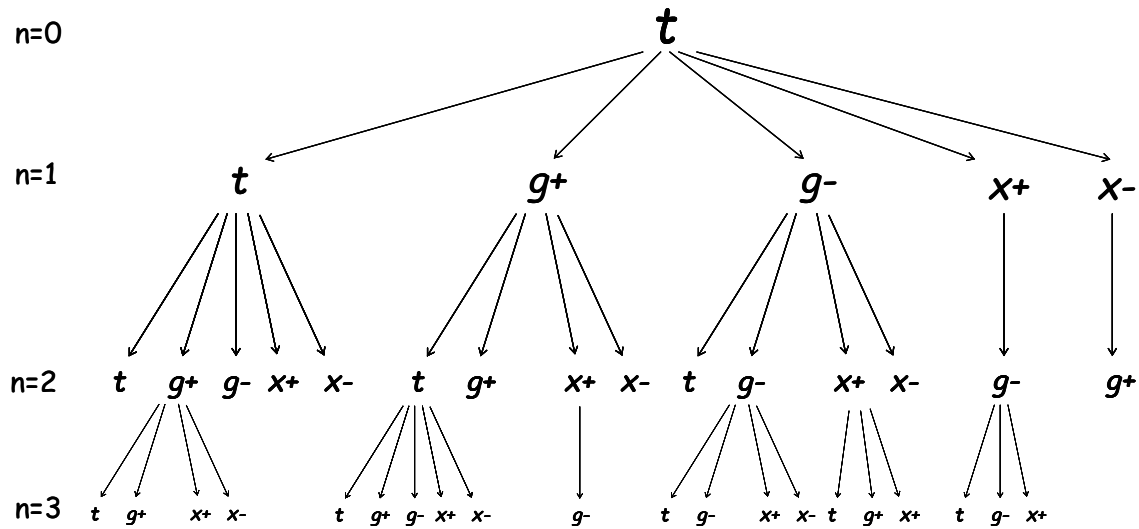
Az ábráról leolvasható, hogy:

$$t_n = t_{n-1} + g_{n-1}, \quad g_n = 2t_{n-1} + g_{n-1}, \quad (5)$$

ahol t_n és g_n az n -edik szinten található rendre 3 és 2 kivezető éllel (kifokkal) rendelkező csúcs. Ebből következik, hogy:

$$C_n(B_I) = t_n + g_n = t_{n-1} + g_{n-1} + 2t_{n-1} + g_{n-1} = 2(t_{n-1} + g_{n-1}) + t_{n-1} = 2C_{n-1}(B_I) + C_{n-2}(B_I) \quad (6)$$

Az előző esetben alkalmazott gráfelméleti megközelítés arra is használható, hogy a konformációs tér összes konformerét összeszámoljuk. A 7.1.2.2. ábra a normál alkánok konformációs terét leíró G gráfot szemlélteti. Megjegyezzük, hogy G' a t , g^+ , g^- csúcsokból álló halmaz által feszített részgráfja G -nek.



7.1.2.2. ábra. A lehetséges konformereket leíró G gráf sematikus ábrája.

A G gráf alapos analízise a következő rekurziós összefüggéseket eredményezte a 1. modell esetén:

$$\begin{aligned} a_n &= a_{n-1} + b_{n-1} + d_{n-1}, \\ b_n &= 2a_{n-1} + b_{n-1} + b_{n-3} + c_{n-3} + c_{n-4}, \\ c_n &= 2a_{n-1} + b_{n-1} + b_{n-2} + b_{n-3} + 2c_{n-3} + c_{n-4}, \\ d_n &= b_{n-1} + b_{n-2} + c_{n-1} + 2c_{n-2} + c_{n-3}, \end{aligned} \quad (7)$$

ahol a_n , b_n , c_n és d_n az n -edik szinten lévő rendre az 5, 4, 1 és 3 kifokkal rendelkező csúcsok számai, $n=0$ -ra: $a_0=1$, $b_0=c_0=d_0=0$ és $n<0$ $a_n=b_n=c_n=d_n=0$. Végezetül az n szabad torziós szöggel rendelkező alkán konformerek száma a következő egyenletből kapható:

$$C_n(B) = a_n + b_n + d_n. \quad (8)$$

Megjegyezzük, hogy az 1 kifokú csúcspontokat a második szabály miatt el kell hanyagolni a (8)

egyenletben. A 2. modell esetében, azaz amikor elhagyjuk a III. szabályt (az MM2 erőterben található konformerek), a rekurziós képletek a következőképp néznek ki:

$$\begin{aligned}
 a_n &= a_{n-1} + b_{n-1} + d_{n-1}, \\
 b_n &= 2a_{n-1} + b_{n-1} + b_{n-3} + c_{n-3} + c_{n-4}, \\
 c_n &= 2a_{n-1} + b_{n-1} + b_{n-2} + b_{n-3} + c_{n-3} + c_{n-4}, \\
 d_n &= b_{n-1} + b_{n-2} + c_{n-1} + c_{n-2} + c_{n-3}.
 \end{aligned}
 \tag{9}$$

A (9) egyenletek használatával a konformerek száma szintén a (8) képlet segítségével kapható meg. Az 7.1.2.1. táblázat felsorolja a különböző modellekkel számolt értékeket $n=40$ -ig. A táblázatban a 0. modell jelöli a (4) egyenlettel kapott eredményeket. Érdekes, hogy az 1. és a 2. modell esetén kapott egész sorozatok, melyek a normál alkánok konformereinek a számát adják meg, nem fordulnak elő az egész sorozatok enciklopédiájában (<http://www.research.att.com>).

7.1.2.1. táblázat A különböző modellekkel számolt n -alkán konformerek száma.

n	0. Modell	1. Modell	2. Modell
1	3	3	3
2	7	11	11
3	17	35	35
4	41	107	109
5	99	339	347
6	239	1073	1105
7	577	3375	3507
8	1393	10633	11135
9	3363	33525	35371
10	8119	105651	112343
11	19601	332941	356797
12	47321	1049305	1133207
13	114243	3306957	3599143
14	275807	10421967	11431063
15	665857	32845327	36305649
16	1607521	103513709	115308721
17	3880899	326228241	366226729
18	9369319	1028123557	1163155753
19	22619537	3240180157	3694245273
20	54608393	10211580633	11733121945
21	131836323	32182277499	37265026883
22	318281039	101423965833	118355731271
23	768398401	319642412979	375904173873
24	1855077841	1007368140211	1193891891823
25	4478554083	3174768208785	3791864917001
26	10812186007	10005431759263	12043167097497
27	26102926097	31532590122723	38249747002215
28	63018038201	99376445091607	121483255514989
29	152139002499	313189554080745	385837359123841
30	367296043199	987031652156513	1225440222727991
31	886731088897	3110676807889763	3892064114500595
32	2140758220993	9803444683903509	12361405142762380
33	5168247530883	30896018328432150	39260488164678835
34	12477253282759	97370259059799520	124693423856546550
35	30122754096401	306866964169575350	396033026585146800
36	72722761475561	967105711825511600	1257822211431372000
37	175568277047523	3047879267084092000	3994911053787981000
38	423859315570607	9605535272029320000	12688052558331027000
39	1023286908188737	3027229748193785000	40297937940401080000
40	2470433131948081	95404573392538760000	127988420191571700000

n : a C-C-C-C torziós szögek száma, 0. Modell: (I,a), 1. Modell: (I-IV), 2. Modell: (I, II, IV) szabályok vannak érvényben.

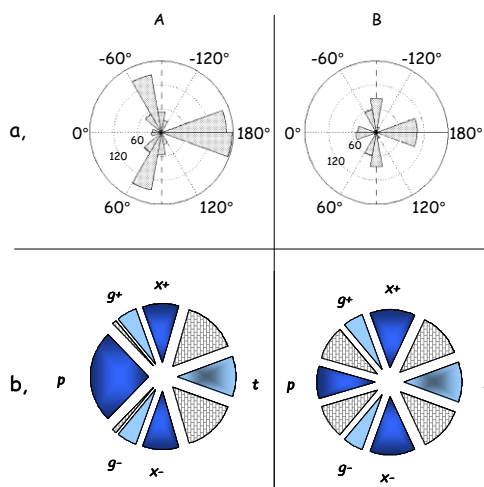
A normál alkán láncok és a normál alkilcsoportok a legegyszerűbb olyan molekulák, amelyek magasabb rendű szerkezettel rendelkeznek. Konformációs tulajdonságaik tanulmányozása közelebb vihet bennünket a fehérjék betekeredésének megértéséhez. Közismert, hogy a rövid láncú normál alkánok esetén (C_4 - C_{12}) az „all-trans” forma a globális minimum a PES-en. Nagyobb molekulák esetén a helyzet lényegesen különbözhet ettől. MM2 vizsgálatokkal

kimutatták, hogy a C_{17} -nél nagyobb normál alkánok esetén a globális minimum szerkezetek „folded” formájúak [Goodman 1997a]. Újabban a $C_{39}H_{80}$ molekulát standardként használják a különböző konformációs keresési eljárások értékelésére, összehasonlítására. Az 7.1.2.1. táblázat szerint e molekula esetén a lokális minimumok száma meglehetősen nagy ($n=36$), még akkor is, ha csak a termodinamikailag legstabilabbakat vesszük figyelembe. Az eddig MM2 módszerrel megtalált legmélyebb energiájú konformer szekvenciája: $t, t, t, t, t, t, t, g^-, t, t, g^+, g^+, t, g^+, t, t, t, t, t, t, t, t, g^-, g^-, t, g^-, g^-, t, t, t, t, t, t, t, t$, azaz a B_1 halmazhoz tartozik. Megjegyezzük, hogy adott molekula esetén a globális minimumhoz tartozó konformáció megtalálása számítástechnikailag és elméletileg is összetett feladat.

7.2. A melatonin konformációs analízise ab initio kvantumkémiai módszerekkel.

7.2.1. A konformerek osztályozása és az eredmények értelmezése

Ha a kapott konformerek torziós szögeit polárkoordináta-rendszerben ábrázoljuk (7.2.1.1. ábra, a) - ahol a vektor abszolút értéke a gyakoriság, az általa bezárt polárszög pedig a torziós szög -, akkor láthatjuk, hogy a gyakoriságok alapján a torziós szögeket STO-3G bázis esetén a következő intervallumokba sorolhatjuk: szinperiplanáris vagy cisz $p[-40^\circ; +40^\circ]$, szinklinális vagy gauche $g^+[+50^\circ; +70^\circ]$, $g^-[-70^\circ; -50^\circ]$, „extended” gauche $x^+(+70^\circ; +115^\circ]$, $x^-[-115^\circ; -70^\circ]$, antiperiplanáris vagy transz $t[-160^\circ; -180^\circ]$ $U[+160^\circ; +180^\circ]$ (7.2.1.1. ábra, b). Az is megfigyelhető, hogy 6-31G* bázis használatával a p torziót meghatározó intervallum lényegesen szűkebb: $[-16^\circ; +16^\circ]$. A STO-3G esetén tapasztalt szélesedést okozó torziók az amid nitrogén piramidális szerkezetének következményei, ugyanis minimális bázissal számolva a θ_4 torzió nem síkszerkezetű.

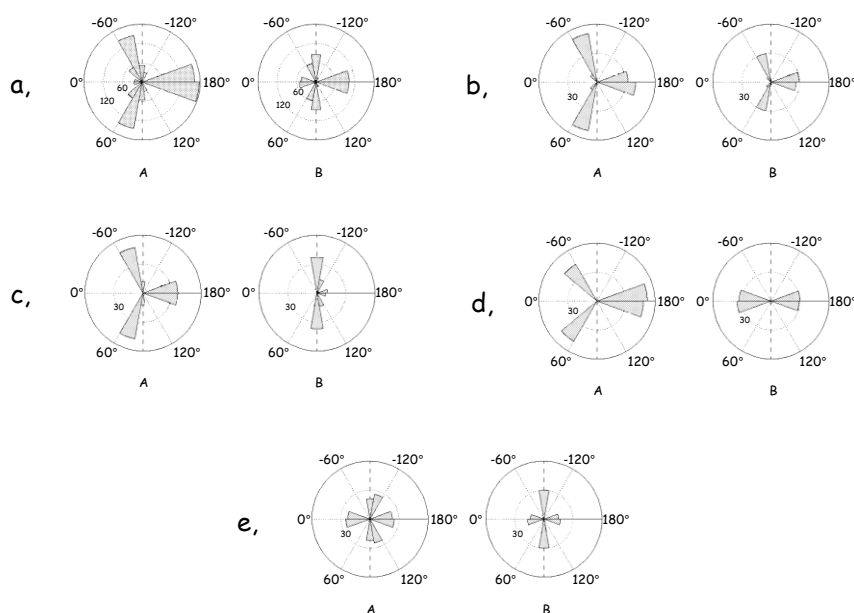


7.2.1.1. ábra. a, a torziós szögek gyakorisága polárkoordináta rendszerben, b, a p , g^+ , g^- , x^+ és x^- torziók Newman-projekciója (a vetítés tengelye $+90^\circ$ -al el van forgatva, hogy összhangban legyen az a résszel).

A, HF/STO-3G bázis

B, HF/6-31G* bázis

Tekintsük a $\varphi: K \rightarrow L^5$ leképezést, ahol L a fenti intervallumok ($L=\{p, g^+, g^-, x^+, x^-, t\}$), K pedig a konformerek halmaza. A φ leképezés injektív, azaz L elemeinek a fenti módon történő definiálása a $(-180, +180]$ intervallumban biztosítja, hogy L Descartes hatványainak segítségével egyértelműen leírhatunk minden egyes konformert. φ -re az indulási halmaz számossága HF/6-31G* esetén 128, HF/STO-3G bázis használatával pedig 192, ezzel szemben az érkezési halmazé $6^5 = 7776$, ezért szűrjekcióról - és ennek folyományaként bijekcióról - szó sem lehet. A bijekció nem is lehet reális elvárás, hiszen az lenne a feltétele, hogy kémiai környezettől függetlenül minden rotábilis kötés mentén ugyanolyan energiaviszonyok uralkodjanak, ami nyilvánvalóan lehetetlenség. Pontosan a heterogén kémiai környezet következménye, hogy az egyes torziós szögek különböző eloszlást követnek (7.2.1.2. ábra). Ezenkívül az is nyilvánvaló, hogy létezhetnek olyan további kölcsönhatások, melyek még tovább csökkentik a lehetséges konformerek számát – magától értetődő, hogy egy kötés mentén felvett diéderes szög hatással lehet a szomszédos diéderes szögek értékeire; az alkánok esetén pontosan azt mutattuk meg, hogy nem csak az 1-4, hanem az 1-5, 1-6 és 1-7 kölcsönhatások is alapvető szerepet játszanak a molekulák geometriájának kialakításában.



7.2.1.2. ábra Az egyes torziós szögek gyakorisága polárkoordináta rendszerben,

a, θ_1 ; b, θ_2 ; c, θ_3 ; d, θ_4 ; e, θ_5 ;

A, HF/STO-3G bázis

B, HF/6-31G* bázis

A θ_1 torziós szög esetén a torziós tengely egyik végpontja egy trigonális sp_2 hibrid állapotú szénatom, ami megnöveli a 90° körüli diéderes szög valószínűségét (x^+ , x^-) a gauche jelleg (g^+ , g^-) rovására (7.2.1.2. *ábra, a*). Ezen kívül az indolgyűrű pirrol hidrogénje távolabb van a 3-as helyzetű szubsztituenstől, mint a benzolé, kedvezményezetté téve ezzel a transz helyzetet – nincs p konformáció. A θ_2 torziós szög az egyetlen „szabályos” bután-gauche diéderes szög, g^+ , g^- és t konformációval (7.2.1.2. *ábra, b*).

Az θ_3 torziós szög környezete hasonló az θ_1 -hez, egy sík szerkezet található a tengely egyik végpontjában, ami szintén a 90° körüli diéderes szöget teszi kedvezményezetté (7.2.1.2. *ábra, c*).

A θ_4 -et alkotó atomok delokalizációt szenvednek – a nitrogén nemkötő elektronpárja és az oxo-csoport delokalizálódik (STO-3G esetén részlegesen) – így nincs szabad rotáció – csak transz vagy cisz konformáció (7.2.1.2. *ábra, d*).

θ_5 esetén szintén egy a benzol gyűrű részét képező trigonális sp_2 hibrid állapotú szénatom alkotja a torziós tengely egyik végpontját, valamint a környezet - eltérően θ_1 -től - teljesen szimmetrikus. Ennek következtében a p , x^+ , x^- és t konformációk eloszlása egyenletes (7.2.1.2. *ábra, e*).

7.2.2. A szakirodalommal történő összevetés

7.2.2.1. Explicit modellek

A melatoninnal kapcsolatos közleményekben a számított, vagy kísérleti úton meghatározott konformereket megadási módjuk alapján két csoportba soroltuk. Explicit modelleknek neveztük el azon szerzők tollából származó geometriákat, melyekből valamilyen módon ki lehet fejezni a konformerek torziós szögeit. A kutatók másik csoportja az aktív konformerek geometriáját, valamilyen molekulán belüli feltételrendszer teljesüléhez kötötte. Ez utóbbi csoportba tartozó geometriákat implicit modelleknek neveztük el. A következőkben konformációs tér alatt az általunk meghatározott HF/6-31G* bázissal számított konformerek halmazát értjük.

Az 7.2.2.1.1. táblázatban láthatjuk a szakirodalomban fellelhető explicit modelleket eredményeink tükrében. Szembetűnő, hogy csak a Navajas és Florio által végzett vizsgálatok kérdőjelezik meg a θ_4 torzió transz mivoltát [Florio és *mtsai*. 2002; Navajas és *mtsai*. 1996]. Erre nyilvánvalóan a torziós szög peptid kötással való analógiája szolgáltatja a magyarázatot. A cisz konformáció létezése mellett szól az a tény, hogy Florio kísérletesen is meghatározott ilyen konformereket. Érdeemes megemlíteni, hogy θ_4 torziót általában t konformációban rögzítették, ezzel csökkentve az optimalizálási probléma dimenzióját. Ennek következtében már a kiindulási feltételekkel korlátozták a modellek érvényességét. Korlátozott minimalizálási feladatok esetén nyilvánvaló, hogy egy $K \subseteq H$ esetén kapott optimum, mindig felső korlátja a H halmazon kapható optimumoknak. Meg kell jegyeznünk, hogy számításaink szerint a transz konformerek valóban energetikailag kedvezőbb geometriát képviselnek, azonban statisztikailag a konformációs térben a cisz konformerek relatív gyakorisága 0,5 körüli (HF/STO-3G: $92/192=0,48$ HF/6-31G*: $68/128=0,53$).

A θ_5 torzió esetén meg kell emlékeznünk arról, hogy amíg a szakirodalomban heves vita zajlik arról, vajon a metoxi-csoport t , vagy p pozícióban található-e, addig számításaink szerint további két konformerrel is számolni kell, ráadásul mind a négy konformációnak ugyanakkora az előfordulási gyakorisága az általunk vizsgált populációban (0,25).

Utalva az előző pontban a θ_1 - és θ_3 -ról leírtakra magától értetődő, hogy Jansen, Vasilescu és Spadoni egyes modelljeit miért nem találtuk meg konformációs terünkben [Jansen és *mtsai*. 1993; Jansen és *mtsai*. 1996; Vasilescu és Broch 1999] [Spadoni és *mtsai*. 1997].

Azon oknál fogva, hogy mint fentebb említettük a θ_3 „szabályos” gauche torziós szögnek tekinthető a rá vonatkozó irodalmi eredmények teljes összhangban vannak az általunk meghatározottakkal.

7.2.2.1.1. táblázat Az explicit modellek.

	θ_1	θ_2	θ_3	θ_4	θ_5	HF/ STO-3G	HF/ 6-31G*
Wakahara	t	t	t	t	p	+	+
Lewis	x ⁺	t	x ⁺	t	t	+	+
Jansen	x ⁺	g ⁻	-136°	t	p	-	-
	x ⁺	g ⁻	x ⁺	t	p	+	+
	x ⁺	g ⁺	+139	t	p	-	-
	t	g ⁺	+138	t	p	-	-
	t	g ⁺	-138°	t	p	-	-
	g ⁺	g ⁺	x ⁻	t	p	-	-
	x ⁺	t	x ⁺	t	p	++	++
	x ⁺	t	x ⁻	t	p	+	+
	t	t	x ⁺	t	p	+	+
Sugden	t	t	t	t	t	+	+
Jansen	g ⁺	t	x ⁻	t	p	-	-
Navajas	t	t	t	p	p	+	+
Spadoni	x ⁺	t	x ⁺	t	t	+	+
	x ⁺	t	t	t	t	+	-
	p	t	x ⁻	t	t	-	-
	p	t	t	t	t	-	-
	t	t	x ⁺	t	t	+	+
Vasilescu	x ⁺	g ⁻	+127	t	t	-	-
	x ⁺	g ⁻	-121°	t	t	-	-
	x ⁻	g ⁺	-130°	t	t	-	-
	x ⁻	g ⁺	x ⁺	t	t	+	+
Florio	x ⁻	t	x ⁻	t	p	++	++
	x ⁻	g ⁻	x ⁺	t	p	+	-
	x ⁻	g ⁺	x ⁺	t	p	+	+
	x ⁻	t	x ⁺	t	p	+	+
	x ⁻	g ⁻	x ⁺	t	t	+	-
	x ⁻	g ⁺	x ⁺	t	t	+	+
	x ⁻	t	x ⁻	t	t	+	+
	x ⁻	g ⁺	x ⁺	p	p	+	+
	x ⁻	g ⁻	x ⁻	p	p	+	+

+: jelen van, -: nincs jelen a populációban, ++: globális minimum, zölden csíkozott cellák: kísérletesen meghatározott konformációk.

7.2.2.2. Implicit modellek

A 7.2.2.2.1. táblázatban a szakirodalomban található implicit modelleket tüntettük fel. Sicsic és csoportja 57 eltérő szerkezeti családba tartozó melatonin receptor ligandumra végzett 3D-CoMFA analízist [Sicsic és mtsai. 1997]. Negyvennyolc molekula segítségével állították fel a

modellt és 9-en tesztelték. Az illesztéseknél a legmerevebb szerkezettel bíró triciklusos naftalin származékot használták.

Marot és *mtsai* szintén 3D-CoMFA módszert használtak, azonban 64 az előzőektől teljesen eltérő molekula szolgált a modell meghatározására [Marot és *mtsai*. 1998]. Ezen kívül az illesztéseket a 2-jód-melatoninra végezték.

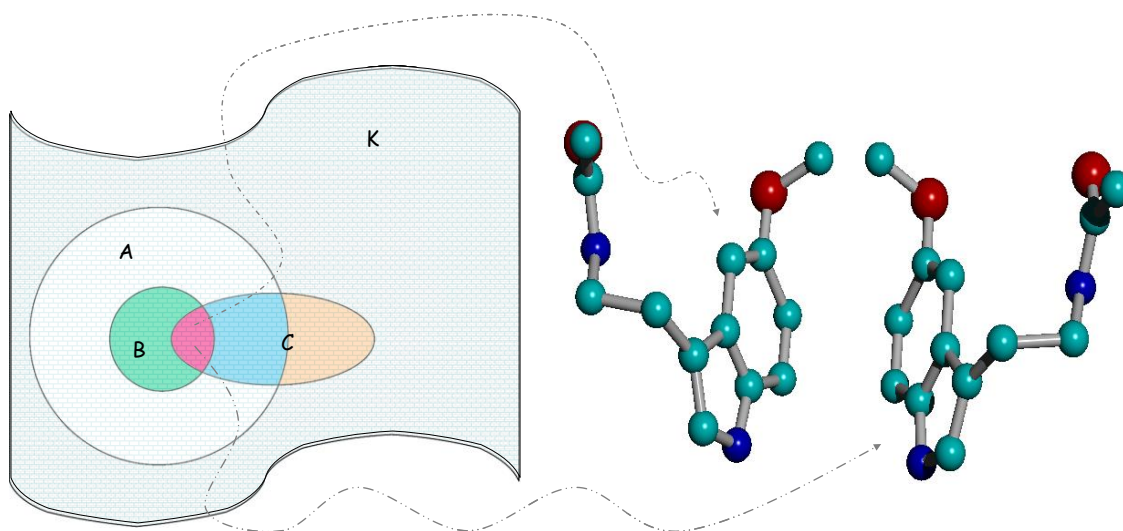
Sastre és munkatársai MM3, 3-21G* és DFT módszerek segítségével állították össze az aktív konformerre vonatkozó feltételrendszerüket [Sastre és *mtsai*. 2001].

7.2.2.2.1. táblázat Az implicit modellek.

HF/6-31G*	Sicsic ^a			Marot ^b						Sastre ^c	
	a ₁ [Å]	a ₂ [Å]	a ₃ [Å]	b ₁ [Å]	b ₂ [Å]	b ₃ [Å]	b ₄ [Å]	b ₅ [Å]	b ₆ [Å]	c ₁ [Å]	c ₂ [Å]
	1.95	3.77	4.94	2.4	1.1	5.5	5.1	4.2	3.6	4.70	4.75
x ⁺ g ⁺ x ⁺ t ⁺ x ⁻	2.31	3.97	5.37	2.3	1.2	5.4	5.5	4.4	3.6		
x ⁺ g ⁺ x ⁻ t ⁺ x ⁺	2.31	3.97	5.37	2.3	1.2	5.4	5.5	4.4	3.6		
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ x ⁻	2.00	4.14	5.38	2.0	1.2	5.4	5.2	4.6	3.6		
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ x ⁺	2.00	4.14	5.38	2.0	1.2	5.4	5.2	4.6	3.6		
x ⁺ g ⁻ x ⁺ t ⁺ t ⁺	2.25	3.98	5.28							5.00	5.30
x ⁻ g ⁺ x ⁺ t ⁺ t ⁺	2.25	3.98	5.28							5.00	5.30
x ⁺ g ⁻ x ⁺ t ⁺ x ⁻	2.20	3.98	5.43							5.00	5.40
x ⁻ g ⁺ x ⁺ t ⁺ x ⁺	2.20	3.98	5.43							5.00	5.40
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ p ⁺	1.95	4.03	5.21							4.60	5.20
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ p ⁺	1.95	4.03	5.21							4.60	5.20
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ t ⁺	2.11	4.04	5.28							4.80	5.30
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ t ⁺	2.11	4.04	5.28							4.80	5.30
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ x ⁺	2.09	3.98	5.20							4.70	5.20
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ x ⁻	2.09	3.98	5.20							4.70	5.20
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ x ⁻	1.94	4.09	5.26	1.9	1.2	5.3	4.9	4.5	3.6	4.70	5.30
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ x ⁺	1.94	4.09	5.26	1.9	1.2	5.3	4.9	4.5	3.6	4.70	5.30
x ⁻ x ⁺ x ⁺ p ⁺ x ⁺	1.92	4.10	5.21								
x ⁺ x ⁻ x ⁺ p ⁺ x ⁻	1.92	4.10	5.21								
x ⁻ g ⁺ x ⁺ p ⁺ t ⁺	2.05	4.11	5.31								
x ⁺ g ⁻ x ⁺ p ⁺ t ⁺	2.05	4.11	5.31								
x ⁻ x ⁺ x ⁺ p ⁺ p ⁺	1.76	4.17	5.25								
x ⁺ x ⁻ x ⁺ p ⁺ p ⁺	1.76	4.17	5.25								
x ⁺ g ⁻ x ⁺ t ⁺ x ⁺										4.94	5.56
x ⁻ g ⁺ x ⁺ t ⁺ x ⁻										4.94	5.56
x ⁺ g ⁻ x ⁺ t ⁺ t ⁺										4.83	5.48
x ⁻ g ⁺ x ⁺ t ⁺ t ⁺										4.83	5.48

(a₁: az amid nitrogénjének (N10, az atomszámozást illetően lásd 4.3.2.1 ábra) távolsága az indolgyűrű síkjától, a₂,: N10 és az indolgyűrű középpontjának távolsága, a₃: N10 és a metoxi oxigénjének (O14) távolsága ±0.5 Å), (b₁: N10 és a benzolgyűrű síkjának (poPr) távolsága, b₂: a metoxi szénatomjának (C15) és poPr távolsága, b₃: N10 és O14 közötti távolság, b₄: az acetyl oxigénjének és O14-nek a távolsága, b₅: N10 és a benzolgyűrű középpontjának (coPr) távolsága , b₆: C16 és coPr távolsága ±0.5 Å),. (c₁: az amid hidrogénjének és O14-nek a távolsága (4.4-5.0Å), c₂: N10 és O14 távolsága (4.4-5.1Å))

Zöld színnel jelöltük azon konformereket, amelyek mind a Sicsic, mind a Marot által megadott feltételeknek eleget tesznek. Kékkel jelöltük azokat, melyek a Sicsic és Sastre modelleket teljesítik. A pirossal színezett konformerek mindhárom feltételrendszernek kielégítik. Figyelemre méltó, hogy a modelleket alkotók eltérő kiindulási feltételek alapján állították össze az aktív konformer geometriájára vonatkozó követelményrendszerüket, azonban ennek ellenére az általunk meghatározott konformációs térben léteznek olyan konformerek, amelyek mindhárom feltételrendszert egyszerre kielégítik. Az 7.2.2.2.1. ábrán láthatjuk az implicit modellek és az általunk meghatározott konformerek Venn-diagramját. Az ábra szemléletesen mutatja be, hogy a Sicsic és *mtsai* által megadott feltételek a legáltalánosabbak, HF/6-31G* szinten a konformerek több mint 20%-a eleget tesz ezeknek. A Marot által lefektetett követelmények tulajdonképpen a Sicsic-féle rendszer szigorítását jelentik, $B \subseteq A$. A Sastre és *mtsai* által megadott definíciót teljesítő geometriák 25%-a esik kívül a Sicsic által megadott altéren, $|A \cap C| \gg |C - A|$.



7.2.2.2.1. ábra Az implicit modellek Venn-diagramja.

Bal oldal: K - a HF/6-31G* konformációs tér

A - Sicsic és *mtsai*, B - Marot és *mtsai* és C - Sastre és *mtsai* által meghatározott altér.

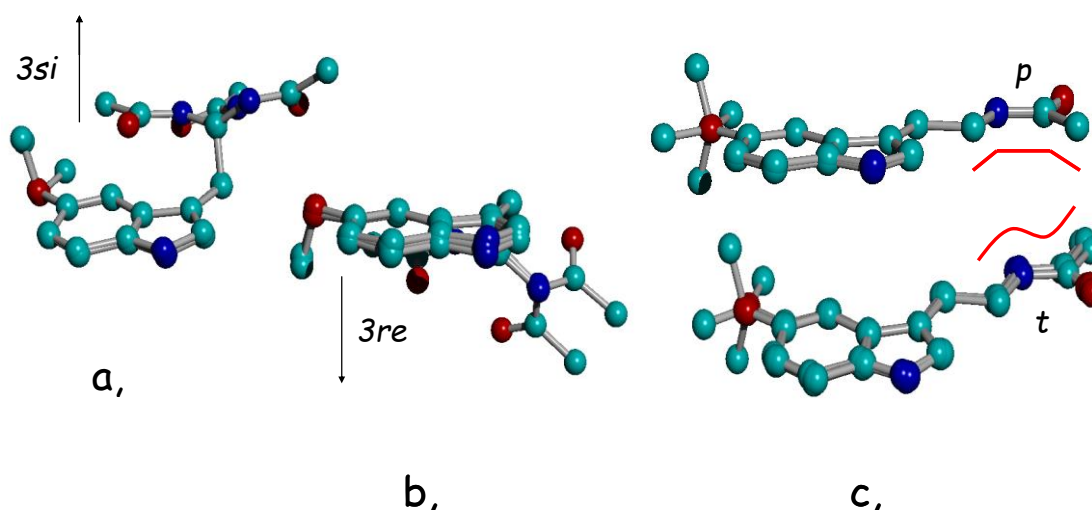
Jobb oldal: az interszekciót alkotó két konformer.

7.2.3. Ekvivalencia relációk a konformációs potenciális energiafelületen

Mivel az indolgyűrű kétdimenziós kiralitással rendelkezik, ezért a bevezetőben említettek miatt az összes olyan melatonin konformer, amely nem sík szerkezetű: planárisan királis

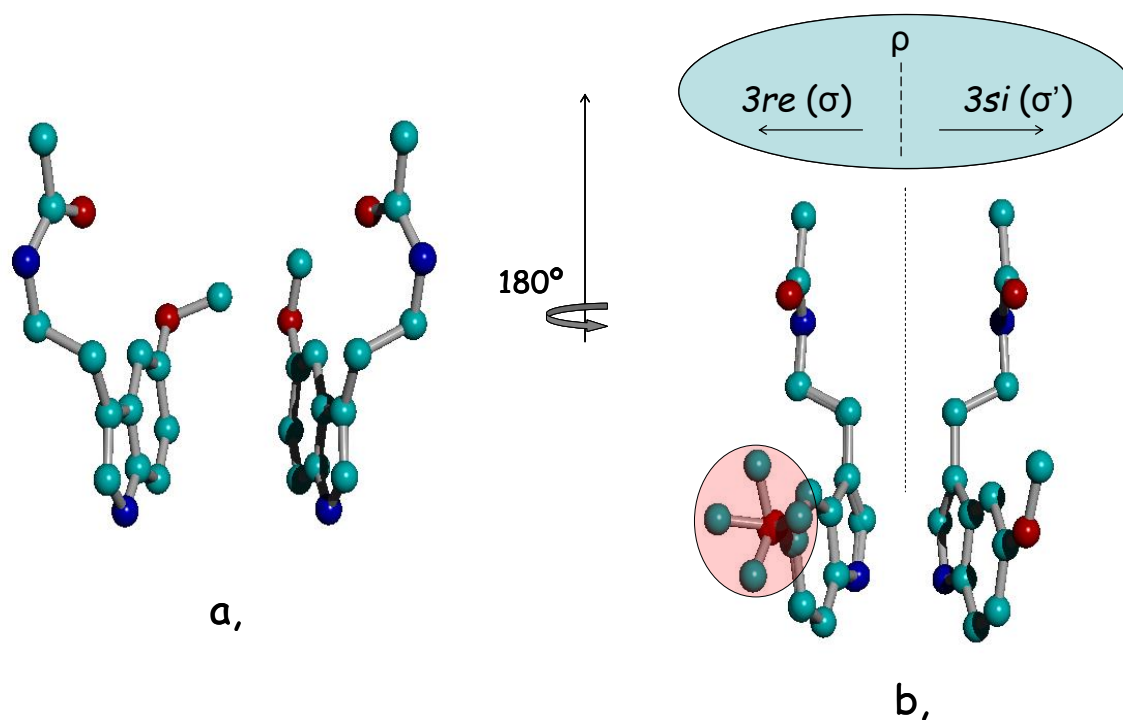
konformáció. Ennek szem előtt tartásával a következő ekvivalencia relációkat vezettük be a konformerek halmazában.

A konformációs tér legegyszerűbb osztályozása az indolgyűrű 2D-s kiralitásából következik: az egyik osztályba kerülnek azon konformerek, amelyek amid-oldalláncai az indolgyűrű *3si* oldalán vannak (60 elem, 7.2.3.1 ábra, a), a másikba a *3re* oldaliak (szintén 60 elem, 7.2.3.1 ábra, b), minden elemnek megvan a másik osztályban az enantiomer párja. Az indolgyűrű síkja szolgál tükörsíkként. A két osztályból kimaradt konformerek kerülnek a harmadik osztályba – ezeknél az amid-oldallánc nem lép ki a gyűrű síkjából. Ez utóbbi osztálynak nyolc eleme van: $t t t t t$, $t t t t x^+$, $t t t t x^-$, $t t t t p$, $t t t p t$, $t t t p x^+$, $t t t p x^-$, $t t t p p$, (7.2.3.1 ábra, c).



7.2.3.1. ábra. A konformációs tér legegyszerűbb osztályozása
a, 3db *3si* oldali -, b, 3db *3re* oldali konformer szuperpozíciója
c, a sík szerkezetű 3'-oldallánccal rendelkező konformerek (fent a 4db cisz-, lent a 4db transz-acetamid kötéssel rendelkező konformer szuperpozíciója)

Természetesen ennél részletesebb osztályozást is adhatunk a konformerek halmazában. Definiáljuk φ indulási halmazán a következő osztályozást a ρ ekvivalencia reláció segítségével: $\forall k, k' \in K$ -ra $k \rho k' \Leftrightarrow k(l_1, l_2, l_3, l_4, l_5), k'(l'_1, l'_2, l'_3, l'_4, l'_5), l_i, l'_i \in L \wedge |l_i| = |l'_i| \ i=1, \dots, 4$ -re. Így azon konformerek kerülnek egy osztályba, amelyek 3'-amid-oldalláncai a torziós szögek előjelétől eltekintve ugyanúgy tekerednek (7.2.3.2 ábra, a). Szigorúbb osztályozással, a σ reláció bevezetésével az ekvivalencia osztályokat alosztályokra bonthatjuk. $\forall k, k' \in K$ -ra $k \sigma k' \Leftrightarrow k(l_1, l_2, l_3, l_4, l_5), k'(l'_1, l'_2, l'_3, l'_4, l'_5), l_i, l'_i \in L \wedge l_i = l'_i \ (i=1, \dots, 4)$, azaz azon konformerek lesznek ugyanazon osztály tagjai, melyekben a 3'-csoport geometriája azonos (7.2.3.2 ábra, b).



7.2.3.2. ábra. A konformációs tér osztályozására bevezetett ρ és σ ekvivalencia relációk.
 a, az egyik ρ osztály két képviselője ($x^+ t x^+ t x^+$ és $x^- t x^- t p$)
 b, a ρ és a σ osztály közötti kapcsolat (bal oldal: 4db σ osztályhoz tartozó konformer szuperpozíciója, jobb oldal: egy a σ' osztálybeli elem)

A 7.2.3.2. ábráról leolvasható, hogy a ρ osztályozás esetén nem vagyunk tekintettel az 5'-metoxi-csoport torziójára. Ennek következtében egy ρ osztály elemeinek a száma: 8. Természetesen az indolgyűrű síkjában tartózkodó 3'-amid-oldalláncok esetén csak négy elemmel kell számolnunk. Mivel 17 abszolút értékben különböző 3' lánclefutást találtunk, ezért a 128 konformert 17 ekvivalencia osztályba sorolhatjuk $128=15 \cdot 8 + 2 \cdot 4$ (7.2.3.1. táblázat). A két sík szerkezettel rendelkező ($t t t t$ -, $t t t p$ -) konformáció okozza a képletben a $2 \cdot 4$ -es szorzót.

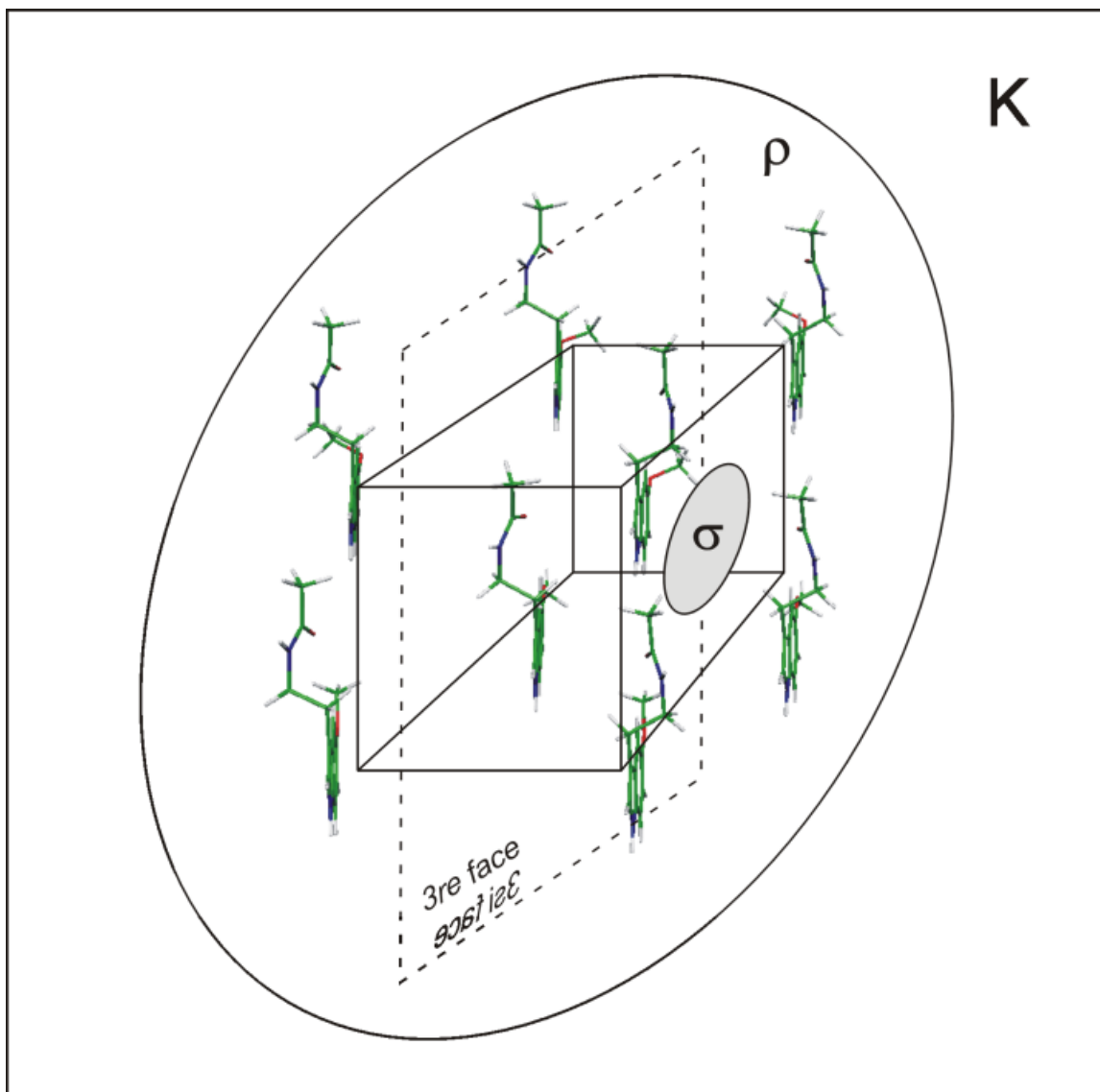
7.2.3.1. táblázat Az ekvivalencia osztályok.

Enantiomer párok			Enantiomer párok		
3si oldal	3re oldal	energia [kJ/mol]	3si oldal	3re oldal	energia [kJ/mol]
	1.			9.	
$x+t \ x+t \ p$	$x-t \ x-t \ p$	0.000	$x+g+ x+ p \ p$	$x-g- x- p \ p$	-15.267
$x+t \ x+t \ x-$	$x-t \ x-t \ x+$	-7.215	$x+g+ x+ p \ x+$	$x-g- x- p \ x-$	-18.738
$x+t \ x+t \ x+$	$x-t \ x-t \ x-$	-7.388	$x+g+ x+ p \ x-$	$x-g- x- p \ x+$	-18.846
$x+t \ x+t \ t$	$x-t \ x-t \ t$	-10.079	$x+g+ x+ p \ t$	$x-g- x- p \ t$	-18.946
	2.			10.	

$x+g+x+t\ p$	$x-g-x-t\ p$	-2.515	$x+g+x-p\ p$	$x-g-x+p\ p$	-15.861
$x+g+x+t\ x+$	$x-g-x-t\ x-$	-6.018	$x+g+x-p\ x+$	$x-g-x+p\ x-$	-19.116
$x+g+x+t\ x-$	$x-g-x-t\ x+$	-6.769	$x+g+x-p\ t$	$x-g-x+p\ t$	-19.379
$x+g+x+t\ t$	$x-g-x-t\ t$	-6.829	$x+g+x-p\ x-$	$x-g-x+p\ x+$	-19.610
3.			11.		
$x+g-x-t\ p$	$x-g+x+t\ p$	-2.520	$x+t\ x-p\ p$	$x-t\ x+p\ p$	-17.546
$x+g-x-t\ x+$	$x-g+x+t\ x-$	-6.595	$x+t\ x-p\ x+$	$x-t\ x+p\ x-$	-21.114
$x+g-x-t\ t$	$x-g+x+t\ t$	-8.580	$x+t\ x-p\ x-$	$x-t\ x+p\ x+$	-21.445
$x+g-x-t\ x-$	$x-g+x+t\ x+$	-9.804	$x+t\ x-p\ t$	$x-t\ x+p\ t$	-21.508
4.			12.		
$x+t\ x-t\ p$	$x-t\ x+t\ p$	-4.771	$x+t\ x+p\ p$	$x-t\ x-p\ p$	-17.635
$x+t\ x-t\ x+$	$x-t\ x+t\ x-$	-7.517	$x+t\ x+p\ x+$	$x-t\ x-p\ x-$	-20.912
$x+t\ x-t\ x-$	$x-t\ x+t\ x+$	-7.850	$x+t\ x+p\ t$	$x-t\ x-p\ t$	-21.246
$x+t\ x-t\ t$	$x-t\ x+t\ t$	-7.971	$x+t\ x+p\ x-$	$x-t\ x-p\ x+$	-21.450
5.			13.		
$t\ g+t\ t\ p$	$t\ g-t\ t\ p$	-8.310	$t\ g+t\ p\ p$	$t\ g-t\ p\ p$	-20.513
$t\ g+t\ t\ x-$	$t\ g-t\ t\ x+$	-12.159	$t\ g+t\ p\ x+$	$t\ g-t\ p\ x-$	-24.113
$t\ g+t\ t\ x+$	$t\ g-t\ t\ x-$	-12.513	$t\ g+t\ p\ x-$	$t\ g-t\ p\ x+$	-24.493
$t\ g+t\ t\ t$	$t\ g-t\ t\ t$	-12.854	$t\ g+t\ p\ t$	$t\ g-t\ p\ t$	-24.680
6.			14.		
$t\ t\ x+t\ p$	$t\ t\ x-t\ p$	-10.344	$t\ t\ x+p\ p$	$t\ t\ x-p\ p$	-21.490
$t\ t\ x+t\ x-$	$t\ t\ x-t\ x+$	-13.513	$t\ t\ x+p\ x+$	$t\ t\ x-p\ x-$	-25.593
$t\ t\ x+t\ x+$	$t\ t\ x-t\ x-$	-14.259	$t\ t\ x+p\ x-$	$t\ t\ x-p\ x+$	-25.596
$t\ t\ x+t\ t$	$t\ t\ x-t\ t$	-14.658	$t\ t\ x+p\ t$	$t\ t\ x-p\ t$	-26.208
7.			15.		
$x+g-x+t\ p$	$x-g+x-t\ p$	-12.182	$x+x-x+p\ p$	$x-x+x-p\ p$	-17.688
$x+g-x+t\ x+$	$x-g+x-t\ x-$	-13.986	$x+x-x+p\ x-$	$x-x+x-p\ x+$	-21.030
$x+g-x+t\ t$	$x-g+x-t\ t$	-14.535	$x+g-x+p\ t$	$x-g+x-p\ t$	-28.392
$x+g-x+t\ x-$	$x-g+x-t\ x+$	-15.561	$x+g-x+p\ x+$	$x-g+x-p\ x-$	-28.936
8.					
$x+g-x-p\ p$	$x-g+x+p\ p$	-13.697			
$x+g-x-p\ x-$	$x-g+x+p\ x+$	-18.678			
$x+g-x-p\ x+$	$x-g+x+p\ x-$	-26.118			
$x+g-x-p\ t$	$x-g+x+p\ t$	-26.287			
16.			17.		
$t\ t\ t\ t\ x+$	$t\ t\ t\ t\ x-$	-14.860	$t\ t\ t\ p\ x+$	$t\ t\ t\ p\ x-$	-26.678
	$t\ t\ t\ t\ p$	-12.176		$t\ t\ t\ p\ p$	-22.624
	$t\ t\ t\ t\ t$	-15.186		$t\ t\ t\ p\ t$	-27.166

A szürkén színezett konformerek metoxi-csoportja az 5si oldalon található.

A σ reláció segítségével a nyolcelemű ρ osztályok tovább bonthatók két négyelemű σ és σ' alosztályra $128=30\cdot4+2\cdot4$. A $t\ t\ t\ t$ _ és $t\ t\ t\ t\ p$ _ osztályok esetén a ρ reláció megegyezik a szigorúbb σ -val, ugyanis ezen osztályok elemei megegyeznek tükörképükkel, és a C_s pontcsoportba tartoznak. Ezen osztályok, alosztályok illetve elemeik között már operálhatunk olyan megszokott sztereokémiai fogalmakkal, mint enantioméria, diasztereoméria és epiméria (7.2.3.3 ábra).



7.2.3.3. ábra. A konformációs tér osztályozására bevezetett ρ és σ ekvivalencia relációk. Az ábrázolt paralelepipedon csúcspontjaiban található az $|x^+ \vdash x^+ \vdash|$ _ által meghatározott ρ osztály tagjai, a két oldalhoz tartozó csúcspontokban pedig a σ és σ' négy-négy elemét láthatjuk. Azon konformerek, melyeket olyan él köt össze amit a szaggatottal jelölt sík metsz, enantiomer párok. Az egyéb élek mentén epimer-, az átlók mentén pedig diasztereomer párok találhatók.

7.3. A vizsgálatok korlátai

Mint ahogy nem létezik olyan kísérleti protokoll, amely minden felmerülő problémára megoldást kínálna, ugyanígy elmondhatjuk, hogy nincs olyan számítási módszer sem, amely általánosan használható. Az *ab initio* módszerek használatát leginkább a rendelkezésünkre álló számítási idő korlátozza, amely szoros összefüggésben van a vizsgált molekuláris rendszer kiterjedésével. A Hartree-Fock szintű számításokhoz szükséges idő meglehetősen gyorsan nő a molekula méretének növekedésével (N^4). Természetesen a választott báziskészlet is befolyással van a futási időre. Itt jegyezzük meg, hogy mind az alkánok, mind a melatonin esetén a számítások izolált molekulákra vonatkoztak, azaz nem vettük figyelembe az intermolekuláris kölcsönhatásokat. Ily módon a molekulák natív környezetben felvett konformációi eltérhetnek az általunk meghatározott konformer halmazok elemeitől. Az alkánok esetén – mint ahogy az a kísérleti és számított gázfázisú képződéshők összevetéséből kiderült – az eltérés valószínűleg nem számottevő. A melatoninnal kapcsolatban annyit kijelenthetünk, hogy az eddig kísérletesen meghatározott hat konformer eleme az általunk leírt konformációs térnek. Ami az energetikai viszonyokat illeti már bizonytalanabb helyzetben vagyunk. Ehelyütt érdemes említést tenni a Hartree-Fock közelítés egy másik korlátjáról, amely az elektronok mozgásának tökéletlen leírásából származik. A probléma megoldására kidolgozott úgynevezett korrelációs modellek közül az egyik legelterjedtebb az MP2 módszer. Az elektron korrelációs számítások azonban lényegesen „költségesebbek” a Hartree-Fock számításoknál, így általában nem célszerű húsz atomnál nagyobb rendszerekre használni.

8. Következtetések

8.1. Alkánok

Ab initio HF/6-31G* és MP2/6-311G**, valamint szemiempirikus SEOEM számításokkal meghatároztuk a pentán, hexán, heptán, oktán, nonán és dekán molekulák konformációs PES-ét. A SEOEM modell egy skálázott effektív egy elektron módszer, melynek alapját az EHMO-ASED módszer jelenti. Ezzel a modellel egyrészt képesek vagyunk teljes konformációs analízist végrehajtani nagyobb alkánokra is, másrészt megbízható geometriákat és totális energiákat kapunk a molekulák konformereire. Az n -alkánok kvantumkémiai számításokból meghatározott gázfázisú képződéshő pontos egyezést mutattak a kísérleti értékekkel. Az eredmények segítségével négy szabályt származtattunk, amelyekkel undekánig reprodukálni tudtuk a lehetséges konformerek szekvenciáit és számát. A szabályokból kiderül, hogy a normál alkánok konformációs tulajdonságait befolyásoló hatások közül az 1-4, 1-5, 1-6 és 1-7 pozícióban lévő szénatomokhoz kapcsolódó hidrogénatomok között fellépő, vonzó és taszító van der Waals kölcsönhatások a legfontosabbak. Megoldottuk a normál alkán konformerek összeszámlálási problémáját, egy rekurziós képletet vezettünk le a konformerek számának meghatározására. A levezetett rekurziós összefüggések ugyan függenek az alkalmazott elméleti megközelítéstől, azonban a gráfelméleti eljárás általánosan használható.

8.2. Melatonin

Az eddigi legkiterjedtebb és legmagasabb szintű konformációs analízist végeztük el a melatonin konformációs potenciális energiafelületén. Egyezer-ötszáz Monte-Carlo módszerrel generált kiindulási geometriát optimalizáltunk Hartree-Fock szinten STO-3G, majd 6-31G* bázis használatával. 128 lokális minimumot, azaz konformert találtunk, melyeket folyamatosan szigorított ekvivalencia relációk segítségével 3, 17, majd 32 különböző osztályba soroltunk. Az osztályozás során a melatonin olyan sztereokémiai tulajdonságait sikerült feltárnunk, amelyek figyelembevételével a merev királis analógokkal végzett kísérletek eredményei könnyen értelmezhetőkké válhatnak. Kézenfekvőnek tűnik a következtetés, hogy a különböző melatonin receptorokat különböző ekvivalencia osztályba tartozó konformerek aktiválják és feltételezzük, hogy az indolgyűrű *3re*, *5si* oldalához tartozó konformerek az MT₁, míg a *3si* oldaliak az MT₂ receptort részesítik előnyben. A melatonin oldalláncai (3-amid, 5-metoxi) enantio csoportoknak tekinthetők, ezért a konformerek enantiomer, epimer, vagy diasztereomer viszonyban állnak egymással. A sztereokémiai viszonyok ilyen szintű ismerete más megvilágításba helyezheti a sötétség kémiai kifejeződésének, illetve centrálisan királis analógjainak a helikálisan királis receptorokkal szemben tanúsított viselkedését.

A konformerek halmazában találtunk olyan geometriával rendelkező molekulákat, melyek több a nemzetközi szakirodalomban megjelent és az aktív konformer geometriájára vonatkozó feltételrendszernek is eleget tesznek. E követelményrendszerek között mostanáig nem találtak összefüggést. Az ezeket egyszerre kielégítő konformerek ($x^+ \ g^- \ x^- \ p \ x^+$ és $x^- \ g^+ \ x^+ \ p \ x$), valószínűleg nagyon közel állnak az aktív konformációkat képviselő geometriához.

9. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban köszönöm témavezetőimnek Dr. Kálmán Miklósnak és Dr. Tasi Gyulának a szakmai irányítást, a megvalósítható és publikálható ötleteket, melyekkel munkámat és életemet egyaránt megkönnyítették.

Külön köszönöm Dr. Tasi Gyulának, hogy egyetemi éveim óta figyelemmel kíséri és egyengeti szakmai pályafutásomat.

Külön köszönöm Dr. Kálmán Miklósnak, hogy az általa irányított intézetben helyet, lehetőséget és nyugodt háttérrel biztosított a fokozatszerzéshez szükséges kutatások elvégzéséhez.

Köszönöm Prof. Pungor Ernőnek, a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány alapító főigazgatójának a bizalmat és a biztatást, melyeket a szakmai találkozók tanúsított irányomban.

A Bay Zoltán Alkalmazott Alapítványnak köszönöm a kutatásaimhoz nyújtott anyagi támogatást, valamint a tanulmányaimhoz biztosított doktori ösztöndíjat.

Köszönöm Györffy Werner Ph.D. hallgatónak a (szakmailag) együtt töltött éveket.

Köszönöm Varga Tamásnak a számítástechnika területén nyújtott szakmai segítséget, továbbá köszönöm Kráczér Lászlónak, hogy segítségemre volt az ábrák igényes kivitelezésében.

Köszönöm szüleimnek, akik mindig azok maradnak.

Köszönöm feleségemnek, hogy házasságkötésünk ellenére mit sem változott az elmúlt fél év során.

Köszönet illeti továbbá a Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Alapítvány Biotechnológiai Intézetben dolgozó valamennyi munkatársamat és mindazokat, akiket ugyan név szerint nem említettem meg, azonban munkám sikeréhez valamilyen formában hozzájárultak.

10. Hivatkozások

1. Baldwin, J.M. The probable arrangement of the helices in G protein-coupled receptors. *EMBO J.* **1993**, *12*, 1693-1703.
2. Barrett, P.; Conway, S.; Jockers, R.; Strosberg, A.D.; Guardiola-Lemaitre, B.; Delagrange, P., and Morgan, P.J. Cloning and functional analysis of a polymorphic variant of the ovine Mel 1a melatonin receptor *Biochim. Biophys. Acta* **1997**, *1356*, 299-307.
3. Cohen, N. Revised Group Additivity Values for Enthalpies of Formation (at 298 K) of Carbon-Hydrogen and Carbon-Hydrogen-Oxygen Compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1996**, *25*, 1411-1481.
4. Conway, S.; Canning, S.J.; Howell, H.E.; Mowat, E.S.; Barrett, P.; Drew, J.E.; Delagrange, P.; Lesieur, D., and Morgan, P.J. Characterisation of human melatonin mt(1) and MT(2) receptors by CRE-luciferase reporter assay *Eur. J. Pharmacol.* **2000a**, *390*, 15-24.
5. Conway, S.; Drew, J.E.; Canning, S.J.; Barrett, P.; Jockers, R.; Strosberg, A.D.; Guardiola-Lemaitre, B.; Delagrange, P., and Morgan, P.J. Identification of Mella melatonin receptors in the human embryonic kidney cell line HEK293: evidence of G protein-coupled melatonin receptors which do not mediate the inhibition of stimulated cyclic AMP levels *FEBS Lett.* **1997**, *407*, 121-126.
6. Conway, S.; Drew, J.E.; Mowat, E.S.; Barrett, P.; Delagrange, P., and Morgan, P.J. Chimeric melatonin mt1 and melatonin-related receptors. Identification of domains and residues participating in ligand binding and receptor activation of the melatonin mt1 receptor *J. Biol. Chem.* **2000b**, *275*, 20602-20609.
7. Curtiss, L.A.; Raghavachari, K.; Trucks, G.W., and Pople, J.A. Gaussian-2 Theory for

Molecular Energies of First- and Second-Row Compounds. *J. Chem. Phys.* **1997**, *94*, 7221-7230.

8. Davies, D.J.; Garratt, P.J.; Tocher, D.A.; Vonhoff, S.; Davies, J.; Teh, M.T., and Sugden, D. Mapping the melatonin receptor. 5. Melatonin agonists and antagonists derived from tetrahydrocyclopent[b]indoles, tetrahydrocarbazoles and hexahydrocyclohept[b]indoles *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 451-467.
9. Depreux, P.; Lesieur, D.; Mansour, H.A.; Morgan, P.; Howell, H.E.; Renard, P.; Caignard, D.H.; Pfeiffer, B.; Delagrange, P.; Guardiola, B., and . Synthesis and structure-activity relationships of novel naphthalenic and bioisosteric related amidic derivatives as melatonin receptor ligands *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3231-3239.
10. Dewar, M.J.S. and Thiel, W.J. Ground States of Molecules. 38. The MNDO Method. Approximations and Parameters. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 4899-4907.
11. Dewar, M.J.S.; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F., and Stewart, J.J.P. AM1: A New General Purpose Quantum Mechanical Molecular Model. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3902-3909.
12. Dubocovich, M.L. Luzindole (N-0774): a novel melatonin receptor antagonist *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1988a**, *246*, 902-910.
13. Dubocovich, M.L. Pharmacology and Function of Melatonin Receptors. *FASEB J.* **1988b**, *2*, 2765-2773.
14. Dubocovich, M.L. Melatonin receptors: are there multiple subtypes? *Trends Pharmacol. Sci.* **1995**, *16*, 50-56.
15. Dubocovich, M.L.; Benloucif, S., and Masana, M.I. Melatonin receptors in the mammalian suprachiasmatic nucleus *Behav. Brain Res.* **1996**, *73*, 141-147.
16. Dubocovich, M.L.; Shankar, G., and Mickel, M. 2-[125I]iodomelatonin labels sites with identical pharmacological characteristics in chicken brain and chicken retina *Eur. J.*

Pharmacol. **1989**, *162*, 289-299.

17. Dubocovich, M.L. and Takahashi, J.S. Use of 2-[125I]iodomelatonin to characterize melatonin binding sites in chicken retina Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A **1987**, *84*, 3916-3920.
18. Ebisawa, T.; Karne, S.; Lerner, M.R., and Reppert, S.M. Expression cloning of a high-affinity melatonin receptor from *Xenopus* dermal melanophores Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A **1994**, *91*, 6133-6137.
19. Faust, R.; Garratt, P.J.; Jones, R.; Yeh, L.K.; Tsotinis, A.; Panoussopoulou, M.; Calogeropoulou, T.; Teh, M.T., and Sugden, D. Mapping the melatonin receptor. 6. Melatonin agonists and antagonists derived from 6H-isoindolo[2,1-a]indoles, 5,6-dihydroindolo[2,1-a]isoquinolines, and 6,7-dihydro-5H-benzo[c]azepino[2,1-a]indoles J. Med. Chem. **2000**, *43*, 1050-1061.
20. Florio, G.M.; Christie, R.A.; Jordan, K.D., and Zwier, T.S. Conformational preferences of jet-cooled melatonin: probing trans- and cis-amide regions of the potential energy surface J. Am. Chem. Soc. **2002**, *124*, 10236-10247.
21. Fourmaintraux, E.; Depreux, P.; Lesieur, D.; Guardiola-Lemaitre, B.; Bennejean, C.; Delagrangé, P., and Howell, H.E. Tetrahydronaphthalenic derivatives as new agonist and antagonist ligands for melatonin receptors Bioorg. Med. Chem. **1998**, *6*, 9-13.
22. Frey, R.F.; Cao, M.; Newton, S.Q., and Schäfer, L. Electron Correlation Effects in Aliphatic Non-bonded Interactions: Comparison of n-Alkane MP2 and HF Geometries. J. Mol. Struct. (Theochem) **1993**, *285*, 99-113.
23. Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.G.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Keith, T.; Petersson, G.A.; Montgomery, J.A.; Raghavachari, K.; Al-Laham, M.A.; Zakrzewski, V.G.; Ortiz, J.V.; Foresman, J.B.; Cioslowski, J.; Stefanov, B.B.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Peng, C.Y.; Ayala, P.Y.; Chen, W.; Wong, M.W.; Andres, J.L.; Replogle, E.S.; Gomperts, R.; Martin,

- R.L.; Fox, D.J.; Binkley, J.S.; Defrees, D.J.; Baker, J.; Stewart, J.P.; Head-Gordon, M.; Gonzalez, C., and Pople, J.A. *Gaussian 94, Revision D.4*. Gaussian, Inc.: Pittsburgh PA, **1995**
24. Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Zakrzewski, V.G.; Montgomery, J.A., Jr.; Stratmann, R.E.; Burant, J.C.; Dapprich, S.; Millam, J.M.; Daniels, A.D.; Kudin, K.N.; Strain, M.C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V.; Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G.A.; Ayala, P.Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D.K.; Rabuck, A.D.; Raghavachari, K.; Foresman, J.B.; Cioslowski, J.; Ortiz, J.V.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Keith, T.; Al-Laham, M.A.; Peng, C.Y.; Nanayakkara, A.; Gonzalez, C.; Challacombe, M.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.G.; Chen, W.; Wong, M.W.; Andres, J.L.; Head-Gordon, M.; Replogle, E.S., and Pople, J.A. *Gaussian 98*; Gaussian, Inc.: Pittsburgh, PA, **1998**
 25. Fukatsu, K.; Uchikawa, O.; Kawada, M.; Yamano, T.; Yamashita, M.; Kato, K.; Hirai, K.; Hinuma, S.; Miyamoto, M., and Ohkawa, S. Synthesis of a novel series of benzocycloalkene derivatives as melatonin receptor agonists *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4212-4221.
 26. Gang, J.; Pilling, M.J., and Robertson, S.H. Partition Functions and Densities of States for Butane and Pentane. *J. Chem. Soc. ,Faraday Trans.* **1996**, *92*, 3509-3518.
 27. Garratt, P.J.; Jones, R.; Tocher, D.A., and Sugden, D. Mapping the melatonin receptor. 3. Design and synthesis of melatonin agonists and antagonists derived from 2-phenyltryptamines *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1132-1139.
 28. Garratt, P.J.; Travard, S.; Vonhoff, S.; Tsotinis, A., and Sugden, D. Mapping the melatonin receptor. 4. Comparison of the binding affinities of a series of substituted phenylalkyl amides *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1797-1805.
 29. Goodman, J.M. What is the Longest Unbranched Alkane with a Linear Global Minimum

- Conformation? J. Chem. Inf. Comput. Sci. **1997a**, 37, 876-878.
30. Goodman, J.M. What is the Longest Unbranched Alkane with a Linear Global Minimum Conformation? J. Chem. Inf. Comput. Sci. **1997b**, 37, 876-878.
 31. Goto, H.; Osawa, E., and Yamato, M. How Many Conformers Are There for Small n-Alkanes Tetrahedron **1993**, 49, 387-396.
 32. Grol, C.J. and Jansen, J.M. The high affinity melatonin binding site probed with conformationally restricted ligands--II. Homology modeling of the receptor Bioorg. Med. Chem. **1996**, 4, 1333-1339.
 33. Hagan, R.M. and Oakley, N.R. Melatonin comes of age? Trends Pharmacol. Sci. **1995**, 16, 81-83.
 34. Jansen, J.M.; Copping, S.; Gruppen, G.; Molinari, E.J.; Dubocovich, M.L., and Grol, C.J. The high affinity melatonin binding site probed with conformationally restricted ligand--I. Pharmacophore and minireceptor models Bioorg. Med. Chem. **1996**, 4, 1321-1332.
 35. Jansen, J.M.; Karlén, A.; Grol, C.J., and Hacksell, U. Conformational properties of melatonin and two conformationally restricted agonists: a molecular mechanics and NMR spectroscopic study Drug Design and Discovery **1993**, 10, 115-133.
 36. Jellimann, C.; Mathe-Allainmat, M.; Andrieux, J.; Kloubert, S.; Boutin, J.A.; Nicolas, J.P.; Bennejean, C.; Delagrangé, P., and Langlois, M. Synthesis of phenalene and acenaphthene derivatives as new conformationally restricted ligands for melatonin receptors J. Med. Chem. **2000**, 43, 4051-4062.
 37. Jellimann, C.; Mathe-Allainmat, M.; Andrieux, J.; Renard, P.; Delagrangé, P., and Langlois, M. Melatonergic properties of the (+)- and (-)-enantiomers of N-(4-methoxy-2,3-dihydro-1H-phenalen-2-yl)amide derivatives J. Med. Chem. **1999**, 42, 1100-1105.

38. Kawabata, T.; Suzuki, H.; Yoshikazu, N.; Chen, J., and Fuji, K. A Chiral Nonracemic Enolate with Dynamic Axial Chirality: Direct Asymmetric Alkylation of α -Amino Acid Derivatives. *ICR Annual Report* **2000a**, 7, 36-37.
39. Kawabata, T.; Suzuki, H.; Yoshikazu, N.; Wirth, T.; Yahiro, K., and Fuji, K. Memory of Chirality in Alkylation of α -Amino Acid Derivatives. Fourth International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry September 1-30 **2000b**
40. Keinan, S. and Avnir, D. Quantitative Chirality in Structure-Activity Correlations. Shape Recognition by Trypsin, by the D₂ Dopamine Receptor, and by Cholinesterases. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6152-6159.
41. Kloubert, S.; Mathe-Allainmat, M.; Andrieux, J.; Sicsic, S., and Langlois, M. Synthesis of benzocycloalkane derivatives as new conformationally restricted ligands for melatonin receptors *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3325-3330.
42. Lahtela, M.; Pakkanen, T.A., and Nissfolk, F. Molecular Dynamics Study of the Conformational Properties of Branched Alkanes *J. Phys. Chem. A.* **1997**, *101*, 5949-5952.
43. Lerner, A.B.; Case, J.D., and Heinzelman, R.V. Structure of Melatonin *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 6084-6085.
44. Lerner, A.B.; Case, J.D.; Takahasi, Y.; Lee, T.H., and Mori, W. Isolation of Melatonin, the Pineal Gland Factor that Lightens Melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2587-2587.
45. Lewis, D.F.; Arendt, J., and English, J. Quantitative structure-activity relationships within a series of melatonin analogs and related indolealkylamines *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1990**, *252*, 370-373.
46. Marot, C.; Chavatte, P.; Morin-Allory, L.; Viaud, M.C.; Guillaumet, G.; Renard, P.; Lesieur, D., and Michel, A. Pharmacophoric search and 3D-QSAR comparative molecular field analysis studies on agonists of melatonin sheep receptors *J. Med.*

Chem. **1998**, *41*, 4453-4465.

47. Mazzucchelli, C.; Pannacci, M.; Nonno, R.; Lucini, V.; Fraschini, F., and Stankov, B.M. The melatonin receptor in the human brain: cloning experiments and distribution studies *Brain Res. Mol. Brain Res.* **1996**, *39*, 117-126.
48. McQuarrie Statistical Mechanics Harper & Row **1976**, *New York*
49. Mislow, K. and Raban, M.Top. In Stereochem. **1967**, 1-1.
50. Mor, M.; Plazzi, P.V.; Spadoni, G., and Tarzia, G. Melatonin *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 501-518.
51. Mor, M.; Rivara, S.; Silva, C.; Bordi, F.; Plazzi, P.V.; Spadoni, G.; Diamantini, G.; Balsamini, C.; Tarzia, G.; Fraschini, F.; Lucini, V.; Nonno, R., and Stankov, B.M. Melatonin receptor ligands: synthesis of new melatonin derivatives and comprehensive comparative molecular field analysis (CoMFA) study *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3831-3844.
52. Mor, M.; Spadoni, G.; Di Giacomo, B.; Diamantini, G.; Bedini, A.; Tarzia, G.; Plazzi, P.V.; Rivara, S.; Nonno, R.; Lucini, V.; Pannacci, M.; Fraschini, F., and Stankov, B.M. Synthesis, pharmacological characterization and QSAR studies on 2-substituted indole melatonin receptor ligands *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1045-1057.
53. Navajas, C.; Kokkola, T.; Poso, A.; Honka, N.; Gynther, J., and Laitinen, J.T. A rhodopsin-based model for melatonin recognition at its G protein-coupled receptor *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *304*, 173-183.
54. Nosjean, O.; Ferro, M.; Cogé, F.; Beauverger, P.; Henlin, J.M.; Lefoulon, F.; Fauchere, J.L.; Delagrangé, P.; Canet, E., and Boutin, J.A. Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2 *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 31311-31317.

55. Nógrádi, M. Bevezetés a sztereokémiába Muszaki Könyvkiadó **1975**, 22-48.
56. Pappola, M.; Bozner, P.; Soto, C.; Shao, H.; Robakis, N.K.; Zagorski, M.; Frangiones, B., and Ghiso, J. Inhibition of Alzheimer β -Fibrillogenesis by Melatonin. *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 7185-7188.
57. Pevet, P. Melatonin: from seasonal to circadian signal *J. Neuroendocrinol.* **2003**, 15, 422-426.
58. Pierpaoli, W. and Maestroni, G.J. Melatonin: a principal neuroimmunoregulatory and anti-stress hormone: its anti-aging effects *Immunol. Lett.* **1987**, 16, 355-361.
59. Prelog, V. and Helmchen, G. Basic principles of the CIP-System and Proposal for a Revision. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, 21, 567-583.
60. Reiter, R.J. Pineal Melatonin: Cell Biology of Its Synthesis and its Physiological Interactions. *Endocr. Rev.* **1991**, 12, 151-180.
61. Reiter, R.J. Melatonin and Tryptophan Derivatives as Free Radical Scavengers and Antioxidants. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1999**, 467, 379-379.
62. Reppert, S.M.; Godson, C.; Mahle, C.D.; Weaver, D.R.; Slaugenhaupt, S.A., and Gusella, J.F. Molecular characterization of a second melatonin receptor expressed in human retina and brain: the Mel1b melatonin receptor *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **1995**, 92, 8734-8738.
63. Reppert, S.M.; Weaver, D.R., and Godson, C. Melatonin receptors step into the light: cloning and classification of subtypes *Trends Pharmacol. Sci.* **1996**, 17, 100-102.
64. Sastre, J.A.; Miguel, R.N.; Molina, R.P.; Zarzuelo, M.C.G.; Romero-Ávila, C., and Ramos, A. Biological Activity of Melatonin and Some Analogous: Geometrical and Electrical Requirements. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2001**, 573, 271-281.
65. Sicsic, S.; Serraz, I.; Andrieux, J.; Bremont, B.; Mathe-Allainmat, M.; Poncet, A.; Shen, S., and Langlois, M. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship

of melatonin receptor ligands: a comparative molecular field analysis study *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 739-748.

66. Smith G.D. and Jaffe, R.L. Quantum Chemistry Study of Conformational Energies and Rotational Energy Barriers in n-Alkanes. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 18718-18724.
67. Spadoni, G.; Balsamini, C.; Diamantini, G.; Di Giacomo, B.; Tarzia, G.; Mor, M.; Plazzi, P.V.; Rivara, S.; Lucini, V.; Nonno, R.; Pannacci, M.; Fraschini, F., and Stankov, B.M. Conformationally restrained melatonin analogues: synthesis, binding affinity for the melatonin receptor, evaluation of the biological activity, and molecular modeling study *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1990-2002.
68. Spadoni, G.; Balsamini, C.; Diamantini, G.; Tontini, A.; Tarzia, G.; Mor, M.; Rivara, S.; Plazzi, P.V.; Nonno, R.; Lucini, V.; Pannacci, M.; Fraschini, F., and Stankov, B.M. 2-N-acylaminoalkylindoles: design and quantitative structure-activity relationship studies leading to MT2-selective melatonin antagonists *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2900-2912.
69. Stewart, J.J.P. Optimization of Parameters for Semiempirical Methods. I. Method. *J. Comput. Chem* **1989**, *10*, 209-220.
70. Stewart, J.J.P. MOPAC: A Semiempirical Molecular Orbital Program. *J. Computer-Aided Mol. Des.* **1990**, *4*, 1-105.
71. Strader, C.D.; Fong, T.M.; Graziano, M.P., and Tota, M.R. The family of G-protein-coupled receptors *FASEB J.* **1995**, *9*, 745-754.
72. Sugden, D.; Chong, N.W., and Lewis, D.F. Structural requirements at the melatonin receptor *Br. J. Pharmacol.* **1995a**, *114*, 618-623.
73. Sugden, D.; Davies, D.J.; Garratt, P.J.; Jones, R., and Vonhoff, S. Radioligand binding affinity and biological activity of the enantiomers of a chiral melatonin analogue *Eur. J. Pharmacol.* **1995b**, *287*, 239-243.

74. Tarzia, G.; Diamantini, G.; Mor, M., and Spadoni, G. Design and synthesis of melatonin receptors agonists and antagonists *Farmaco* **2000**, *55*, 184-187.
75. Tasi, G. and Mizukami, F. Quantum Algebraic-Combinatoric Study of the Conformational Properties of n-Alkanes. I. *J. Math. Chem.* **1999**, *25*, 55-64.
76. Tasi, G. and Mizukami, F. Scaled Effective One-Electron Method Based on G2 Theory: Results for Aliphatic Alkane Molecules. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1998**, *38*, 632-638.
77. Tasi, G.; Mizukami, F., and Pálinkó, I. A New Program for Effective One-Electron (EHMO-ASED) Calculations. *Comput. Chem.* **1997**, *21*, 319-325.
78. Tsuzuki, S.; Schäfer, L.; Goto, H.; Jemmis, E.D.; Hosoya, H.; Siam, K.; Tanabe, K., and Osawa, E. Investigation of Intramolecular Interactions in n-Alkanes. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4665-4671.
79. Turjanski, A.G.; Rosenstein, R.E., and Estrin, D.A. Reactions of melatonin and related indoles with free radicals: a computational study *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3684-3689.
80. Uchikawa, O.; Fukatsu, K.; Tokunoh, R.; Kawada, M.; Matsumoto, K.; Imai, Y.; Hinuma, S.; Kato, K.; Nishikawa, H.; Hirai, K.; Miyamoto, M., and Ohkawa, S. Synthesis of a novel series of tricyclic indan derivatives as melatonin receptor agonists *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4222-4239.
81. Utiger, R.D. Melatonin - The Hormon of Darkness *N. Engl. J. Med.* **1992**, *327*, 1377-1379.
82. Vasilescu, D. and Broch, H. Quantum Molecular Modeling of Melatonin. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1999**, *460*, 191-205.
83. Wakahara, A.; Fujiwara, T., and Tomita, K.-I. The Crystal and Molecular Structure of Melatonin, N-Acetyl-5-Methoxytryptamine. *Chem. Lett.* **1972**, 1139-1142.

84. Wess, J. G-protein-coupled receptors: molecular mechanisms involved in receptor activation and selectivity of G-protein recognition *FASEB J.* **1997**, *11*, 346-354.
85. Yous, S.; Andrieux, J.; Howell, H.E.; Morgan, P.J.; Renard, P.; Pfeiffer, B.; Lesieur, D., and Guardiola-Lemaitre, B. Novel naphthalenic ligands with high affinity for the melatonin receptor *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1484-1486.
86. Yous, S.; Durieux-Poissonnier, S.; Lipka-Belloli, E.; Guelzim, H.; Bochu, C.; Audinot, V.; Boutin, J.A.; Delagrang, P.; Bennejean, C.; Renard, P., and Lesieur, D. Design and synthesis of 3-phenyl tetrahydronaphthalenic derivatives as new selective MT2 melatonergic ligands *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 753-759.
87. Zabrodsky, H. and Avnir, D. Continuous Symmetry Measures. 4. Chirality. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 462-473.
88. Zabrodsky, H.; Peleg, S., and Avnir, D. Continuous Symmetry Measures. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7843-7851.

11. Summary

11.1. Unbranched Alkanes

Theoretical study of the conformational flexibility of biologically active molecules is of utmost importance. Knowledge of each possible conformer is essential, since it is far from certain that the biologically active conformer corresponds to the global minimum of the molecular potential energy surface. The simplest class of molecules with high conformational flexibility is that of the unbranched aliphatic alkanes.

An effective one-electron quantum chemical method was applied to enumerate the conformers of unbranched alkanes. According to the quantum chemical calculations, there are two kinds of gauche C–C–C torsional angle in the isolated *n*-alkane molecules: one is around $\sim 60^\circ$ and the other around $\sim 95^\circ$.

The results obtained for pentane, hexane and heptane were utilized to derive four rules with which the number and sequences of the existing conformers up to decane could be reproduced. The validity of the rules was confirmed at Hartree-Fock and second-order Moeller-Plesset levels too. The rules demonstrate that the most important factors governing the conformational behavior of unbranched alkanes are the non-bonded repulsive-attractive (van der Waals) interactions between the hydrogen atoms attached to the carbon atoms at positions 1-4, 1-5, 1-6 and 1-7. With the help of statistical thermodynamics, the gas-phase standard heats of formation of unbranched alkanes can be determined from the quantum chemical calculation results. The calculated values for the C₅-C₁₀ molecules closely matched the experimental values.

We solved the whole conformational enumeration problem of *n*-alkanes. Most probably the rules determining the sequences of the conformers slightly depend on the force field applied. Nevertheless, the graph theory method presented here can be applied in every case.

11.2. Melatonin

Melatonin is a hormone, which is synthesized and secreted by the pineal gland during darkness and has been implicated in the regulation of several neural and endocrine processes. Conformational analysis of melatonin was performed at Hartree-Fock *ab initio* level. With the help of STO-3G and 6-31G* basis sets, 192 and 128 conformers were obtained, respectively. The conformational analysis conducted by us is one of the most extended and the highest level investigations concerning the conformational space of melatonin up to now. All those torsional angles were involved, which could significantly affect the topology of the conformational PES of the molecule. In case of melatonin, there are no high inner rotational barriers, the conformers can transform into each other investing a little energy. However, we cannot forget the possibility that enzymes and catalysts might provide rotational barriers for their substrates and fix that in a chiral conformation. One can call these conformations of substrates active site induced chiral conformations. Differentiating this type of rotational barrier from the inner one, one can term the concept of outer rotational barrier and its induced conformational chirality as docking chirality. With the help of equivalence relations, the conformational hypersurface was divided into equivalence classes. According to the ρ equivalence relation, the 128 conformers can be divided into 17 equivalence classes and all the classes can be divided into two subclasses applying σ except two. In case of ρ $128=15\cdot 8+2\cdot 4$, in case of σ $128=30\cdot 4+2\cdot 4$. It can be concluded that the side chains of melatonin are enantiotopic groups and conformers are correlated with each other as enantiomer, epimer, or diastereomer pairs. Since the active conformation of melatonin is probably a folded structure, we can say that melatonin has conformational planar docking chirality. Based on these considerations, it is possible to explain the outcomes of restricted chiral melatonin analog experiments. It is suggested that conformers belonging to different equivalence classes should react with different receptor sites and elements of equivalent classes of *3re* and *5si* face side of the indole ring prefer the MT₁, while *3si* face side ones favor the MT₂ melatonin receptor site. We think that the knowledge of stereochemistry of the hormone of darkness can be the key to understand the interaction between the central chiral melatonin analogs and their receptors.

There have been published several papers including different implicit requirements considering the active conformation of melatonin. We think that one of the most important result

of our investigations is the relationship between implicit models established by Sicsic, Marot, Sastre and the HF/6-31G* conformational space of melatonin obtained by us. As the conformers $x^+ g^- x^- p x^+$ and $x^- g^+ x^+ p x^-$ meet all the requirements of the three quite different sets of conditions, one should pay distinctive attention to them.